

**ROBERTO CORDEIRO DE ANDRADE TEIXEIRA**

**Associação dos Marcadores de Ativação Endotelial, Anticorpo  
Antipeptídeo Citrulinado Cíclico e Fator Reumatóide com a Atividade  
Inflamatória e Gravidade da Artrite Reumatóide**

Tese apresentada à Universidade Federal de São  
Paulo - UNIFESP, para obtenção do título de  
Mestre em Ciências.

**SÃO PAULO**

**2007**

**ROBERTO CORDEIRO DE ANDRADE TEIXEIRA**

**Associação dos Marcadores de Ativação Endotelial, Anticorpo  
Antipeptídeo Citrulinado Cíclico e Fator Reumatóide com a Atividade  
Inflamatória e Gravidade da Artrite Reumatóide**

Tese apresentada à Universidade Federal de São  
Paulo - UNIFESP, para obtenção do título de  
Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Gabriel Júnior

**SÃO PAULO**

**2007**

Teixeira, Roberto C. de Andrade.

Associação dos Marcadores de Ativação Endotelial, Anticorpo Antipeptídeo Citrulinado Cíclico e Fator Reumatóide com a Atividade Inflamatória e Gravidade da Artrite Reumatóide.

102p.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP.

Programa de pós-graduação em Clínica Médica.

Association of the Markers of Endothelial Activation, Antibody Antipeptide Cyclical Citrulinated and Rheumatoid Factor with the Inflammatory Activity and Gravity of the Rheumatoid Arthritis

1. Artrite Reumatóide 2. Fator Von Willebrand 3. ICAM-1 4. Anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico 5. Fator de crescimento endotelial vascular 6. Endotelina-1.

*Aos meus pais, Walfredo e Eunice (in memoriam)*

*À minha esposa, Marucha, pelo estímulo e apoio incondicional em todos os momentos, pela grande ajuda na revisão dessa pesquisa, pela compreensão e paciência juntamente com meus filhos, Lucas e Marina, durante o período do mestrado.*

## **Agradecimentos**

*Ao meu grande orientador, Alexandre Gabriel Júnior, pela paciência, dedicação e ensinamentos proporcionados na confecção dessa tese.*

*Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Lopes, pelo esforço desempenhado, para que o Mestrado de Clínica Médica Interinstitucional da UNCISAL com a UNIFESP fosse possível.*

*Às Coordenadoras do Mestrado de Clínica Médica na UNCISAL, Maria do Carmo B. Teixeira e Celina Lacet pelo profissionalismo, apoio institucional, dedicação e orientação intelectual.*

*Ao prof. Dr. Sérgio Tufik, pelo suporte técnico e material dado pela AFIP Laboratorial, imprescindível, para que os ensaios dessa tese fossem realizados.*

*À Maria Cristina De Martino e sua equipe pela valiosa colaboração na execução dos testes laboratoriais.*

*À Lourdes Conceição Martins pela valiosa colaboração na análise estatística.*

*À minha colega Dirlene pelo apoio junto aos pacientes da pesquisa no ambulatório.*

*Aos funcionários da UNCISAL, Luciene e Eduardo, pela dedicação e cordialidade que sempre me dedicaram.*

*Ao Venâncio do Departamento de clínica médica UNIFESP pela atenção e cordialidade que sempre me dedicou.*

*Aos pacientes e colaboradores do grupo controle que participaram, compreendendo a relevância científica desse trabalho.*

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Aspectos Clínicos .....	13
1.2 Avaliação do paciente reumatóide .....	14
1.3 Avaliação funcional .....	15
1.4 Atividade da doença .....	16
1.5 Avaliação radiológica .....	16
2. OBJETIVOS .....	19
3. CASUÍSTICA E MÉTODO .....	20
3.1 Avaliação Clínica .....	20
3.1.1 Classe funcional.....	21
3.1.2 O Health Assessment Questionnaire (HAQ) .....	21
3.1.3 Exame do estado geral e articular do paciente.....	21
3.2 Avaliação da atividade da doença.....	22
3.3 Avaliação Laboratorial.....	22
3.3.1 Medida da VHS.....	23
3.3.2 Medida quantitativa da PCR.....	23
3.4 Detecção do fator reumatóide .....	24
3.4.1 Análise do anticorpo anti citrulinado cíclico (anti-CCP) .....	24
3.4.2 Análise da molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1).....	25
3.4.3 Análise do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).....	26
3.4.4 Análise da endotelina-1 (ET-1).....	26
3.4.5 Análise do Fator vonWillebrand (vWF).....	27
3.5 Exame Radiográfico.....	28
3.6 Método da análise estatística.....	29
4. RESULTADOS .....	30
4.1 Análise radiográfica .....	33
4.2 Análise laboratorial .....	34
4.2.1 Correlação dos marcadores endoteliais com os parâmetros de atividade e gravidade da doença .....	45
4.2.2 Correlação entre os marcadores endoteliais .....	48
5. DISCUSSÃO .....	50
6. CONCLUSÃO.....	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57
ANEXOS	

## Lista de figuras

Figura 1. Distribuição do tempo de evolução da doença no grupo reumatóide.....	31
Figura 2. Distribuição da amostra de 38 pacientes em relação ao score do HAQ.....	32
Figura 3. Distribuição da classe funcional dos 38 pacientes estudados.....	32
Figura 4. Box plot da concentração de FR em controle e reumatóides.....	35
Figura 5. Média e intervalo de confiança da concentração de FR em controles e reumatóides .....	35
Figura 6. Box plot da concentração de anti CCP em controle e reumatóides .....	36
Figura 7. Média e intervalo de confiança da concentração de anti-CCP em controles e reumatóides .....	36
Figura 8. Box plot da concentração de vWF em controles e reumatóides .....	37
Figura 9. Média e intervalo de confiança da concentração de vWF em controles e reumatóides.....	37
Figura 10. Box plot da concentração de ET-1 em controle e reumatóides.....	38
Figura 11. Média e intervalo de confiança da concentração de ET-1 em controles e reumatóides.....	38
Figura 12. Box plot da concentração de ICAM-1 em controle e reumatóides.....	38
Figura 13. Média e intervalo de confiança da concentração de ICAM-1 em controles e reumatóides.....	38
Figura 14. Box plot da concentração de VEGF em controle e reumatóides.....	39
Figura 15. Média e intervalo de confiança da concentração de VEGF em controles e reumatóides .....	39



## Lista de tabelas

Tabela 1. Medida descritiva dos dados demográficos entre o grupo reumatóide e o grupo controle. ....	30
Tabela 2. Características clínicas e radiológicas do grupo reumatóide por sexo. ....	33
Tabela 3. Distribuição do valor absoluto, relativo e média da VHS e PCR por sexo no grupo reumatóide e controle. ....	34
Tabela 4. Distribuição dos auto-anticorpos com valor total por sexo e média no grupo reumatóide e controle. ....	36
Tabela 5. Distribuição dos marcadores de disfunção endotelial com valor total por sexo e média no grupo reumatóide e controle. ....	40
Tabela 6. Correlação do HAQ com a VHS, PCR e o DAS 28 no grupo reumatóide. ....	41
Tabela 7. Correlação do DAS28 com a VHS e PCR no grupo reumatóide. ....	42
Tabela 8. Correlação do FR e anti-CCP com a idade e os parâmetros clínicos de atividade e gravidade da AR. ....	44
Tabela 9. Correlação do FR com o anti-CCP no grupo de reumatóides. ....	45
Tabela 10. Correlação dos auto-anticorpos FR e anti-CCP com os marcadores endoteliais no grupo reumatóide. ....	45
Tabela 11. Correlação dos marcadores endoteliais com a idade e os parâmetros clínicos de atividade e gravidade da AR no grupo de reumatóides. ....	47

## Lista de Abreviaturas

ACR	AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY
ANTI-CCP	ANTIPEPTIDIO CITRULINADO CÍCLICO
APF.....	ANTIFATOR PERINUCLEAR
AR.....	ARTRITE REUMATÓIDE
ET.....	ENDOTELINA
FR.....	FATOR REUMATÓIDE
HAQ.....	HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE
HLA.....	HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN
ICAM.....	MOLÉCULA DE ADESÃO INTERCELULAR
IL.....	INTERLEUCINA
MHC.....	COMPLEXO MAIOR DE ISTOCOMPATIBILIDADE
PCR.....	PROTEÍNA C REATIVA
VEGF.....	FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL VASCULAR
VHS.....	VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO
Vwf.....	FATOR DE VONWILLEBRAND

## Resumo

**Objetivos:** 1- Estudar a ativação endotelial em pacientes com artrite reumatóide, correlacionando os marcadores molécula de adesão intercelular-1(ICAM-1), endotelina-1 (ET-1), fator de vonWillebrand (vWF) e fator de crescimento endotelial (VEGF) com a atividade clínica e laboratorial da doença. 2- Avaliar possíveis correlações entre os níveis destes marcadores com auto-anticorpos Fator reumatóide (FR) e anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) e a gravidade da doença. **Casuística e Métodos:** Em 38 pacientes e 24 indivíduos não reumatóides foram dosados FR, anti-CCP, vWF, ICAM-1, ET-1 e VEGF no soro (Nefelometria, Imunoturbidimetria e EIA). A atividade da doença foi definida pelo escore do DAS28. O HAQ (Health Assessment Questionnaire) definiu a capacidade funcional e os critérios revisados do American College of Rheumatology (ACR) a classe funcional. Radiografias de mãos e punhos quantificaram o índice de Sharp modificado. Na análise estatística foram empregados os testes qui-quadrado, teste T, teste de Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney e o coeficiente de correlação de Spearman. **Resultados:** A idade dos pacientes foi de  $52 \pm 12,5$  anos e dos indivíduos normais de  $49 \pm 9,4$  anos. O tempo de doença foi de  $68 \pm 66,6$  meses. O vWF apresentou correlação significativa com o tempo de evolução da doença, ( $r= 0,340$ ;  $p= 0,037$ ), os auto-anticorpos com o índice de Sharp, FR ( $r= 0,529$ ;  $p= 0,001$ ) anti-CCP ( $r= 0,415$ ;  $p= 0,10$ ). A correlação do vWF e da ICAM-1 foi significativa com o DAS-28 ( $r= 0,374^*$ ;  $p=0,021$ ) e ( $r= 0,338$ ;  $p= 0,038$ ) respectivamente, o vWF se correlacionou com o HAQ ( $r= 0,355$ ;  $p= 0,029$ ) e com o Sharp ( $r= 0,564$ ;  $p= <0,001$ ). A ET-1 não teve correlação significante com nenhuma variável. O VEGF não se correlacionou significativamente com nenhuma variável. **Conclusões:** Os auto-anticorpos e os marcadores endoteliais, exceto o vWF não se correlacionaram com o tempo de doença. O FR e o anti-CCP se correlacionaram com o Índice de Sharp. O vWF apresentou correlação significativa com atividade e gravidade da doença, através da correlação com o DAS28 e com o Sharp. O ICAM-1 teve correlação significativa com o FR, mas não com o anti-CCP. No presente estudo a ET-1 não mostrou ser um bom marcador endotelial para AR.

## **INTRODUÇÃO**

---

## 1. INTRODUÇÃO

A artrite reumatóide é uma doença sistêmica inflamatória com uma prevalência de 1% na população geral (Carvalho, 2001). Incide três a quatro vezes mais no sexo feminino do que no masculino e tem incidência maior na faixa etária dos 30-50 anos (Alarcon, 1995); (Carvalho, 2001). A doença compromete, preferencialmente, pequenas e médias articulações, caracterizando-se por hiperplasia e proliferação sinovial comprometendo a cartilagem articular, o osso subcondral e os tecidos moles periarticulares, causando deformidade articular e incapacidade funcional do indivíduo com impacto sócio-econômico para o paciente e para a sociedade (Laurindo et al., 2002).

É considerada uma doença de etiologia multifatorial, resultado da interação de fatores genéticos, fatores ambientais e autoimunidade, que contribuem para a ocorrência de sua expressão. A susceptibilidade genética, o sexo, a idade, agentes infecciosos, fatores hormonais, nutricionais, socioeconômicos e étnicos, podem contribuir para a ocorrência e severidade da doença (Alamanos, 2005). Vários estudos sugerem a implicação do envolvimento de mycoplasmas, vírus Epstein-Barr, parvovirus e vírus da rubéola na patogênese da AR (Carvalho, 2001).

Os fatores genéticos são relacionados em 30% dos casos como fator causal para AR (Alarcon, 1995). O HLA é o conjunto de genes responsável por codificar as moléculas de histocompatibilidade no homem e estão localizados no braço curto do cromossomo 6. Os genes envolvidos nas populações de reumatóides pertencem aos de classe II que codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade HLA-DR, DQ e DP. Estas moléculas estão presentes constitutivamente na superfície de algumas células como macrófagos, linfócitos B e as células dendríticas apresentadoras de antígenos (Donadi, 2001).

Em determinadas situações, a associação de doença com os marcadores genéticos só pode ser estabelecida com estudo familiar. A ocorrência da associação é avaliada pela comparação das freqüências dos marcadores de histocompatibilidade em pacientes e controles através de testes estatísticos. A força da associação é usualmente calculada pelo risco relativo, o qual indica quão mais freqüente uma doença ocorre em indivíduos portadores de um marcador de histocompatibilidade em relação aos indivíduos que não apresentam o mesmo marcador (Donadi, 2001).

O HLA-DR4 foi o primeiro alelo descrito como estando associado à A.R. (Stastny, 1978). HLA DR4/DR1 estão presentes em mais de 90% da população de reumatóides. Estas populações combinadas com a positividade do fator reumatóide conferem a maior susceptibilidade ao aparecimento precoce das erosões ósseas nos achados radiológicos (Gough, 1994). Os vários alelos HLA-DRB1 associados ao risco para a AR foram bem definidos através da biologia molecular, sendo identificados o DRB1 0401, 0404, 0405, 0408, 0101 e 0102. Os alelos HLA-DRB1 0401, 0404 e 0101 estão associados a indivíduos caucasianos, o DRB1 0405 está presente em asiáticos e o DRB1 0102, em índios norte-americanos (Donadi, 2001). A associação com a AR foi estabelecida através da análise molecular que identificou, na região hipervariável da cadeia beta do gene DR (DRB1), uma sequência de aminoácidos na região 70-74, que aparecia como sendo o “*epítipo compartilhado*”, que conferiria susceptibilidade ou gravidade à A.R. (Singal, 1993). Nas populações brasileiras, caracterizadas pela sua alta miscigenação étnica, a frequência dos alelos associados aos pacientes adultos portadores de artrite reumatóide não é significativamente diferente dos indivíduos normais, porém a frequência do *epítipo compartilhado* está aumentada nos pacientes portadores de AR (Donadi, 2001).

Além dos alelos de classe II do HLA, outros alelos também localizados no MHC conferem susceptibilidade à AR de forma independente, como é o caso do polimorfismo do locus responsável pela síntese do fator de necrose tumoral (TNF) (Donadi, 2001).

Outro fator importante relacionado com a etiopatogenia da AR é a autoimunidade. Fisiologicamente, os linfócitos T (timócitos) são capazes de reagir aos antígenos microbianos através dos seus receptores antigênicos e, ao mesmo tempo, não devem ser reativos às substâncias do próprio corpo pois, assim acontecendo, as células T auto-reativas poderiam destruir tecidos normais (Paula et al., 2002). No timo, os linfócitos T, que não possuem receptores funcionais, sofrem apoptose. Somente aqueles que produzem receptores funcionais, iram amadurecer e entrar na corrente sanguínea. Na corrente sanguínea, os linfócitos maduros permanecem em repouso, a menos que sejam estimulados e encontrem antígenos específicos para seus receptores. Deste modo, as células T tornam-se ativas, se proliferam e na associação com o antígeno produzem proteínas que causam a inflamação. Após o término da sua função, estas células linfocitárias devem morrer. Entretanto, se há uma perda de

tolerância, estas células podem se acumular, dando origem a uma inflamação crônica e uma possível auto-imunidade (Paula et al., 2002).

A apoptose das células não funcionantes se dá através de dois mecanismos: primeiro, pela eliminação do fator do linfócito T, a interleucina 2, após a eliminação do agente infeccioso e segundo pela ativação de um sistema de autodestruição, altamente cronometrado mediado por uma proteína chamada *Fas*, alguns dias após o início da infecção. A célula tem um determinado período para realizar o trabalho e erradicar a infecção, após o que são programadas para morrer (Paula et al., 2002).

A autoimunidade ocorre quando o receptor de antígeno nas células do sistema imune reconhece antígenos específicos das células saudáveis do próprio organismo, levando-as a morte (Paula et al., 2002). Normalmente, há linfócitos autoreativos circulando, sem causar maiores danos, mas, em algumas situações, como na presença de um antígeno estranho, estes linfócitos autoreativos podem ser excitados, de forma incomum, tendo uma reação exagerada, aumentando em número e atacando tecidos saudáveis. Há evidências em animais e humanos da presença de linfócitos autoreativos implicados em síndromes auto-imunes como o lupus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide (Paula et al., 2002).

Pesquisas têm mostrado que linfócitos autoreativos podem viver por muito tempo por produzirem moléculas que impedem o *fas-ligante* de mandar o sinal de destruição da célula. Outra possibilidade é a produção diminuída de *fas* pelos linfócitos, impedindo a apoptose ou aumento da proteína inibidora de apoptose, Bcl-2 (Paula et al., 2002).

Outro fator relacionado à autoimunidade na reação célula / antígeno durante uma infecção e a patogênese da artrite reumatóide é a presença das proteínas de choque térmico (*HSP*) (Tsoulfa et al., 1989). Estas proteínas são imunógenos dominantes em bactérias, micobacterias, protozoários e infecções por helmintos. Ratos imunizados com *mycobacterium tuberculosis* produzem anticorpos “contra as HsPs” 70, 60, 18 e 12. A proteína de choque humana e a HSP da micobactéria apresentam sequência similar (60% de homóloga) aumentando a possibilidade de indução de autoimunidade durante a infecção. HSP 58 são detectados em membrana sinovial e nódulos subcutâneos de pacientes reumatóides (Tsoulfa et al., 1989).

Os fatores ambientais também podem estimular a autoimunidade, como a exposição a luz ultravioleta, ao mercúrio e algumas drogas, que facilitarão a morte e necrose celular determinando a presença de auto-antígenos (Utz et al., 2000; Rodenburg et al., 2000).

É evidente a importância do papel da célula T CD4+ na patogênese da artrite reumatóide (Bennet et al., 2003), baseada em dois mecanismos. O primeiro baseia-se na associação dos alelos ligados à população reumatóide relacionados à molécula de classe II do MHC, que controlam a apresentação e reconhecimento de peptídeos junto a célula T. O segundo é a grande infiltração de células ativas dentro do tecido sinovial de pacientes com artrite reumatóide (Bennet et al. 2003).

Outra evidência da importância do papel da célula T CD4+ é a presença da expansão clonal de célula T na sinóvia indicando a resposta para estímulos antigênicos. Além disso, a célula T por si só está envolvida na estimulação de outras células efetoras, que produzem citocinas inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF -  $\alpha$ ) e interleucina 1 (IL-1) (Bennet et al., 2003).

Embora o foco na patogênese da artrite reumatóide tenha estado, classicamente, centrado no papel da célula T CD4+, novas evidências têm mostrado a importância da célula B no mecanismo patogênico da AR (Kotzin, 2005). A célula B atua como apresentadora de antígeno, ativadora de linfócitos T, produtora de autoanticorpos e responsável por secreção de citocinas. Estudos em modelos animais demonstraram a importância do papel da célula B no envolvimento da artrite reumatóide através da produção de autoanticorpos por estímulo de célula T ativada (Kotzin, 2005). A célula B também pode ter um papel importante na participação efetiva do dano tecidual na AR através do estímulo de liberação de IL 1, fator de necrose tumoral (TNF) e linfotoxinas que são capazes de produzir IL 6 e IL 10, as quais podem reativar a célula B perpetuando o processo (Kotzin, 2005).

O endotélio vascular exerce um papel muito importante na patogênese da artrite reumatóide. É o conjunto celular mais extenso do corpo humano medindo, aproximadamente, 3.600m em um homem de estatura média de 70 kg (Cotron, 1989). Morfologicamente, é caracterizado por uma monocamada de epitélio pavimentoso localizado entre o sangue circulante e a camada média do músculo liso vascular mantendo com esta posição estratégica a homeostase da parede vascular e a regulação da circulação (Carvalho, 2005). A célula endotelial tem um formato grosseiramente poligonal com uma região nuclear central alternada por um citoplasma periférico. Estruturalmente, o endotélio possui três tipos de células: 1-*Contínua*, reveste os vasos incluindo artérias, veias, arteríola, vênulas bem como os capilares da musculatura esquelética, miocárdio, pele, cérebro e tecido conjuntivo. 2-*Fenestrado*, caracterizado pela presença de aberturas ou frestas e está presente nos capilares das



vísceras internas, órgão endócrino como pâncreas e glândula adrenal, assim como, mucosa intestinal, rins e capilares da sinóvia articular. 3-*Descontínuo* que compõe os capilares do fígado, baço e medula óssea. A estrutura e função de cada tipo de endotélio correlacionam com a permeabilidade específica dos vasos de cada órgão (Cotron, 1989).

O endotélio vascular desempenha funções vitais como manutenção da permeabilidade seletiva e da homeostase, regulação do tônus vascular e das reações imunes, controle da proliferação das células do músculo liso vascular, síntese de componentes da matriz extracelular, síntese, secreção e metabolismo de outros componentes biologicamente ativos (Cotron, 1989). Esta capacidade de detectar a mínima alteração na pressão arterial, no fluxo sanguíneo, no balanço oxidativo, na coagulação, inflamação e ativação do sistema imune permitem considerar a célula endotelial como o mais perfeito sensor biológico existente (Nascimento et al., 2005). Em condições fisiológicas desempenha papel protetor do vaso sanguíneo.

O endotélio secreta um importante peptídeo, a endotelina (ET) que participa da manutenção do tônus e da estrutura da parede vascular. É um potente vasoconstritor e sua liberação habitual é induzida por lesão do endotélio. Existem três formas de endotelina: ET-1, ET-2 e ET-3 que atuam em receptores designados como ETA e ETB (Bagnato et al., 2003). A ET pode participar, direta ou indiretamente, na angiogênese através dos seus receptores (Bagnato et al., 2003), estimular a produção do fator de crescimento endotelial (VEGF), principalmente, em presença de hipóxia. O nível deste peptídeo está aumentado no plasma de pacientes com artrite reumatóide (Bagnato et al., 2003). Há estudo mostrando sua associação com distúrbio vascular periférico em pacientes com AR (Mona Pache et al., 2002) e também junto com a molécula-1 de adesão intercelular (ICAM-1) (Klimiuk et al., 2002) e fator de Von Willebrand (Vwf), que estão envolvidos como ativadores celulares (Dolezalová et al., 2003). Haq. A e col. demonstraram um aumento da ET-1 em líquido sinovial e soro de pacientes com AR em comparação com grupo controle, sugerindo que ET-1 pode ter funções imunoregulatórias na patogênese da AR (Haq et al., 1999).

O endotélio secreta outras substâncias, que também exercem funções no tônus vascular, agindo como substâncias vasodilatadoras. O óxido nítrico, mais potente vasodilatador produzido pela célula endotelial, inibe a agregação plaquetária, a coagulação e a proliferação celular (Nascimento et al., 2005). A bradicinina, outra substância vasodilatadora produzida pelo endotélio, é dependente da ação do óxido

nítrico. A prostaciclina é produzida através da ação da cicloxigenase sobre o ácido araquidônico e tem ação vasodilatadora, além de ser um potente inibidor da agregação plaquetária, sendo produzida sob demanda. A serotonina, a histamina e a substância P, atuam em receptores específicos e também promovem a vasodilatação através do AMPc (Nascimento et al. 2005).

O endotélio reage às agressões ao tecido, seja de natureza metabólica, física, química ou inflamatória. Essa reação induz o aumento da expressão de moléculas de adesão celular e da permeabilidade vascular, facilitando a mobilização trans-endotelial de células mononucleares e polimorfomonucleares, assim como a ativação de citocinas e outras células pró-inflamatórias (Marikovsky et al, 2003).

A ICAM-1 desempenha um papel importante no recrutamento e retenção de células pró-inflamatórias no tecido sinovial da artrite reumatóide (McMurray, 1996). Sua expressão é regulada ou induzida por citocinas. A ativação, circulação e migração de leucócitos para sítios inflamatórios dependem do papel desta molécula de adesão celular (McMurray, 1996). Vários estudos demonstram uma expressão aumentada de ICAM-1 em sinóvia reumatóide, quando comparada com outras patologias reumáticas como a osteoartrite, e em sinóvias normais. A expressão de ICAM-1 está presente no início da doença e permanece aumentada com a progressão da inflamação na artrite reumatóide (Klimiuk et al., 2002).

As formas solúveis da seletina, molécula de adesão, Es, Ls e Seletina, exercem um papel importante na regulação da resposta inflamatória (Ates et al., 2004). São responsáveis pela migração leucocitária, após o estímulo de citocinas e endotoxinas (McMurray et al., 1996). Estudos realizados, em humanos e em ratos têm mostrado um aumento da expressão das seletina, principalmente a Es, em soro de pacientes com AR, artrite idiopática juvenil e outras doenças reumáticas autoimunes com comprometimento sistêmico e vasculite. Ao se analisar a expressão desta molécula, juntamente com variáveis clínicas e laboratoriais como PCR e VHS, a Es e a ICAM-1 mostraram ter relação com a fase aguda da doença, demonstrando a importância do envolvimento endotelial nestas doenças inflamatórias autoimunes (Dolezalová et al., 2003).

Na fase inicial da patogenia da artrite reumatóide, a membrana sinovial torna-se edemaciada e começa a proliferar, com formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese) para suprir o aumento da necessidade de nutrientes e oxigênio no local, (Grant et al, 2002) desenvolvendo uma morfologia vilosa. O endotélio sofre mudanças

morfológicas, assumindo a aparência colunar de vênulas endoteliais, facilitando a infiltração de células circulantes e inflamatórias no tecido articular. Os fatores angiogênicos ativam células endoteliais que produzem enzimas proteolíticas como metaloproteinases e ativadores de plasminogênios, resultando na degradação da membrana basal e da matriz extracelular perivascular (Maruotti, 2006). A proliferação dos vasos sanguíneos, a formação de vênulas endoteliais e a expressão de moléculas de adesão sobre a superfície endotelial promovem o retardamento e rolamento das células T circulantes à medida que as mesmas fazem contato com o endotélio vascular (Cush et al, 1987).

A angiogênese é o crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes. O crescimento dos vasos ocorre por três mecanismos diferentes: vasculogênese, angiogênese e arteriogênese. A vasculogênese ocorre durante a fase embrionária. A angiogênese acontece no adulto sendo que, a necessidade de novos nutrientes e a hipóxia induz os mecanismos moleculares e celulares que resultarão no crescimento de novos vasos sanguíneos. É uma etapa essencial no desenvolvimento tecidual pré e pós-natal e também participa na cicatrização, reprodução, nas doenças inflamatórias e degenerativas, distúrbios metabólicos e neoplasias.

A angiogênese e as mudanças morfológicas endoteliais estão entre as primeiras descobertas na AR (Paleolog, 2002). A angiogênese e o pannus podem ser derivados por estímulo de hipóxia. A presença do baixo nível de O<sub>2</sub> intra-articular, ocasionada pelo aumento da demanda metabólica na inflamação sinovial, pode promover alterações que permitem a perpetuação da sinovite (Paleolog, 2002; Giatromonolaki et al., 2003). Outro fator que contribui na indução da angiogênese é o aumento da pressão intra-articular chegando a 300mmhg provocado pelo acúmulo de líquido sinovial na articulação inflamada, agravada pelos movimentos. Isto provoca aumento da isquemia, hipóxia e indução da angiogênese através do estímulo de liberação de indutores como o VEGF (Etherington et al., 2002).

O mediador angiogênico mais estudado é o Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Neufeld et al. apontam este mediador como “o mais específico fator celular endotelial da angiogênese” (Neufeld et al., 1999). Além de mediador seletivo para a angiogênese, induz o aumento da permeabilidade vascular. Encontrado tanto no tecido articular como no soro reumatóide, é expresso por fibroblastos induzidos por citocinas, como a interleucina 1(IL1), IL-6, Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e outros compostos. Afuwape e col. demonstraram que pacientes com AR, na fase inicial

e de atividade da doença, apresentavam uma concentração aumentada de VEGF no soro (Afuwape et al, 2002). Em outro estudo, Weber et al. demonstraram que o VEGF estava aumentado, significativamente, em pannus reumatóide crônico, obtido em pacientes com longa duração da doença (média 19 anos). Maeno encontrou resultados semelhantes ao de Weber em pacientes com ARJ, com mais de dez anos de doença, sugerindo que o VEGF está envolvido durante todo o curso da doença (Maeno et al, 1999).

Os neutrófilos podem secretar VEGF em resposta a diferentes estímulos. Taichman et al. demonstraram, por histoquímica, a presença de VEGF em neutrófilos infiltrando tecido inflamado (Taichman et al., 1997). Kasama et al. demonstraram que o nível de neutrófilos contendo VEGF em líquido sinovial estava significativamente aumentado (Kasama et al., 2000). Desta forma o VEGF tem grande importância no desenvolvimento da destruição articular na AR e possui grande correlação entre a expressão no soro e o grau de alterações radiológicas no primeiro ano de doença (Ballara et al., 2001; Taylor 2002). Outras isoformas de VEGF são transcritas por via alternativas do RNAm, proteínas contendo 121,145, 165 189 e 206 aminoácidos. Estas isoformas têm diferentes propriedades, que determinam como as diferentes glicoproteínas serão secretadas ou permanecerão ligadas à parede celular. Análises mostram que o VEGF121 está expresso, constitutivamente, em tecido sinovial reumatóide. Entretanto, a mesma análise mostra que o VEGF165 está expresso em menor quantidade, mas, sua densidade microvascular está significativamente aumentada no tecido sinovial que o expressa (Ikeda et al., 2000). Há outros membros incluídos na família VEGF: VEGF-B, VEGF-C, e fator de crescimento placentário (FCPL) (Maruotti et al., 2006). O VEGFC é induzido por interleucina-1 (IL-1) e TNF mas, diferentemente, de VEGF não é estimulado por hipóxia.

A célula endotelial expressa três diferentes receptores de VEGF pertencentes à família do receptor tirosina Kinase (TKsR). O VEGFR-1(FLT-1), VEGFR-2 (KDR/FLK-1) e VEGFR-3 (FLT-4). O VEGFR-1 também pode ser encontrado em monócitos. O VEGF-2 tem menor afinidade para VEGF do que o VEGF-1, é expresso em micro vasos em íntima proximidade para a proteína VEGF. VEGF-2 e VEGF-3 são, altamente, expressados em vasos sanguíneos da sinóvia reumatóide, mas o significado dessa expressão não está esclarecido.

Substâncias que exercem papel importante como mediadores angiogênicos tem sido demonstradas na sinóvia de articulações reumatóides assim como o fator de

crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e o fator-2 de crescimento fibroblástico (FGF-2), que já estão aumentados em artrite reumatóide em humanos e induzidas em ratos (Yamashita et al., 2002). A expressão do fator-1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ) hipóxia indutor por macrófagos na sinóvia reumatóide, que também favorece a angiogênese, tem sido descrito (Hollander et al., 2001).

A Angiopoetina-1 é um Fator de crescimento específico para a neovascularização, sua expressão pode ser induzida por TNF- $\alpha$  e está presente, significativamente, na sinóvia reumatóide (Clavel et al., 2003).

A endogлина é uma Glicoproteína endotelial, que contém na sua estrutura química a arginina, glicina e ácido aspártico. Ela atua como uma molécula de adesão sendo receptora para o fator de crescimento  $\beta$ , age como um mediador da angiogênese. Está aumentada no endotélio sinovial reumatóide comparada com a sinóvia normal. Estudos mostram que ratos com deficiência do gene da endogлина morrem por desenvolvimento vascular incompleto comprovando a sua função pró angiogênica (Clavel et al., 2003).

A ativação endotelial estimula a produção de diversas substâncias pró inflamatórias e a angiogênese. As quimiocinas, citocinas especializadas, funcionam como potentes mediadores da inflamação, pela habilidade de recrutar e ativar subpopulações específicas de leucócitos. A distinção entre os subtipos CXC, CC e CX3C está baseada na presença ou ausência de um aminoácido X entre um par de resíduos cisteína próximo do amino terminal da proteína. Várias quimiocinas CXC estão envolvidas na angiogênese da AR (Bodolay et al., 2002). O papel da CC na angiogênese da AR ainda não está, totalmente, estabelecida. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ); marcador primário das doenças inflamatórias; induz a proliferação de fibroblastos, estimula a expressão de moléculas de adesão e aumenta a atividade citolítica das células Natural Killer (NK), além de ativar, diferenciar e proliferar os linfócitos T.

Klimiuk e col. realizaram em seu estudo, o perfil sorológico das moléculas de adesão solúvel ICAM-1, a VCAM-1, E-seletina e VEGF em pacientes portadores de AR e portadores de osteoartrite e correlacionaram com estudo histológico de variantes distintas de sinovites na AR. Foi observado que diferentes tipos de sinovites estiveram associados com diferentes perfis de ICAM-1 e VEGF, mostrando que existe uma heterogeneidade na atividade da AR entre pacientes e sugere que, pacientes com

diferentes formas histológicas, podem responder diferentemente a um determinado regime de tratamento (Klimiuk PA et al., 2002).

A interação entre citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão podem ter efeito estimulatório sinérgico na angiogênese (Bodolay et al., 2002).

Outras substâncias produzidas pelo endotélio têm ação inibitória sobre a angiogênese. Trabalhos com ratos mostram que a endostatina, um fragmento do colágeno tipo XVIII, diminui os níveis de indutores da angiogênese como o VEGF (Koch, 2000). A endostatina induz a apoptose nas células endoteliais, através de uma diminuição dos marcadores com poder apoptóticos BCL-2 e BCL-X endoteliais através do bloqueio da ativação (Dhanabal, 1999) e inibe a invasão de células catalíticas da metaloproteinase da matriz.

A trombospondina-1 e -2 (TSP-1, TSP-2) são inibidores angiogênicos endógenos. O TSP-1 pode agir como uma glicoproteína adesiva que medeia a interação celular ou inibi o efeito do fator angiogênico ou proteinases produzidas por células do tecido sinovial. A expressão aumentada de TSP-2 em sinóvia de AR diminuiu a angiogênese e interrompeu a estimulação imune e a inflamação. Isto indica que TSP-2 é produzido por células sinoviais que agem como regulador da vascularização local e tem um papel protetor prevenindo a inflamação tecidual (Park et al., 2004). Estudos têm mostrado que o desequilíbrio entre marcadores pró angiogênicos e inibidores contribuem para a persistência da angiogênese e, conseqüentemente, para a inflamação articular (Maruotti, 2006).

O vWF é uma glicoproteína segregada no plasma pelas células endoteliais e pelos megacariócitos. Sua função é de adesão e agregação plaquetária, desempenhando um papel importante na formação de tampão hemostático. Os estudos mostram que a inflamação persistente com ativação endotelial estimula a produção de fatores homeostáticos endoteliais como o vWF (Wallberg-Jonsson et al., 2002), o qual tem sido apontado como um fator importante no grupo de desordens caracterizadas por vasculites primárias ou secundárias (Dolezalová et al., 2003)

A artrite reumatóide é caracterizada também pela expressão de auto-anticorpos, três deles têm sido de grande importância no estudo da patogênese da AR. O primeiro deles foi inicialmente descrito por Waller, em 1940 e Rose em 1949 (Waller, 1940; Rose, 1949). O termo fator reumatóide (FR) engloba um grupo de auto-anticorpos das classes IgG, IgM e IgA que tem, em comum, a capacidade de reagir com diferentes epítomos da porção Fc da molécula da imunoglobulina G humana. Atualmente, não é

considerado um marcador específico para o diagnóstico de AR, mas está estabelecido como um dos critérios para classificação da AR pelo *American College of Rheumatology* (ACR). O FR está presente em 70% a 90% dos pacientes reumatóides (Shmerling, Delbanco, 1991). Entretanto, está presente em, aproximadamente, 33% dos pacientes na fase inicial da doença. Sua especificidade é de 59% a 65% podendo ser encontrado em outras condições clínicas como a hanseníase, doença de Chagas, crioglobulinemias, lupus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren, esclerose sistêmica, polimiosite, algumas neoplasias e em uma pequena parcela de indivíduos saudáveis, principalmente, em idosos. Evidências mostram que, fisiologicamente, nos indivíduos normais, o FR pode depurar imunocomplexos, aumentar a efetividade de anticorpos IgG de baixa avidéz ou apresentar antígenos às células T (Van Snick et al., 1978; Roosneck et al., 1991). Muitos pacientes podem apresentar a expressão do FR numa fase mais tardia da doença, outros 15%, não expressam, sendo considerados reumatóides soronegativos. Pacientes que apresentam títulos altos e persistentes de FR tem maior possibilidade de desenvolver doença mais agressiva indicando pior prognóstico (Shmerling, 1991).

O fator antiperinuclear (APF) é um anticorpo contra grânulos ceratohialinos que são eléto-densos, ricos em cisteína, que se concentra ao redor do núcleo das células da mucosa oral. Foi, originalmente, descrito por Nienhuis & Manderna em 1964. Estudo posterior com imunofluorescência indireta usando como substrato o epitélio ceratinizado de mucosa oral identificou as proteínas profilagrina/filagrina como antígenos alvo deste anticorpo. Estes antígenos também foram identificados em estrato córneo do esôfago de rato. O APF é encontrado em 41 a 91% dos pacientes com artrite reumatóide (Nienhuis e Manderna, 1964). Tem especificidade de 90% e sensibilidade em torno de 70%. O APF está expresso em altos títulos tanto em pacientes reumatóides positivos como em reumatóides negativos, principalmente, na fase inicial da doença (Boerbooms et al., 1990; Youinou et al., 1990).

O anticorpo anti-filagrina IgG foi demonstrado em membrana sinovial de pacientes com artrite reumatóide numa proporção de 7,5 vezes maior que no soro (Masson-Bessière et al., 2000).

O diagnóstico precoce e seguro da AR é muito importante para que se possa intervir precocemente, evitando os danos irreparáveis na articulação (ACR Clinical Guidelines Committee, 1996), (Albers et al., 2001). A caracterização de um anticorpo específico e sensível para a artrite reumatóide, principalmente, na sua fase inicial, é de

grande valor (Schellekens, 2000). Após a demonstração da pró-filagrina/filagrina como antígenos do anticorpo antiperinuclear e antiqueratina, o peptídeo da filagrina responsável pela reatividade antigênica foi demonstrado ser um peptídeo contendo o aminoácido citrulina. A citrulina é produzida pela modificação pós-translacional da arginina através da enzima peptidilarginina deiminase (Bizzaro et al., 2001). A citrulinização ocorre, de forma fisiológica, na diferenciação e morte celular programada de células epidérmicas e consiste na deaminação de um resíduo de arginina pela peptidilarginina deiminase, processo que ocorre, abundantemente, na profilagrina e filagrina (Schellekens, 2000). A profilagrina tem 20% dos resíduos de arginina deiminados para citrulina. Para aumentar a sensibilidade da detecção do peptídeo citrulinado, realiza-se a ciclização para que a porção citrulinado seja mais exposta e facilite a ligação com o anticorpo (Schellekens, 2000). Assim, anticorpos contra o antígeno peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP) podem ser detectados com sensibilidade e alta especificidade em pacientes com artrite reumatóide (Schellekens, 2000).

Estudos correlacionam o anti-CCP com a progressão erosiva da doença, sugerindo, que pacientes com altos títulos de anti-CCP possam ter doença mais agressiva e, portanto, pior prognóstico (Vencovsky et al., 2003). O anti-CCP pode ser detectado em 25% dos indivíduos no período de 1 ano e meio a 9 anos do aparecimento dos primeiros sintomas e no ano que antecede os sintomas, a sensibilidade aumenta para 52%, indicando a eficiência destes testes em predizer o desenvolvimento futuro da AR (Vossenaar, 2004).

O progresso atual na definição dos fatores genéticos na artrite reumatóide tem sido extraordinário. Os pacientes com anti-CCP positivo parecem ser imunogeneticamente diferentes dos doentes com anti-CCP negativo, sendo o primeiro subgrupo ligado ao HLA-DRB1 *epítipo compartilhado*. A diferença fenotípica entre anti-CCP positivo e negativo sugere uma reclassificação da AR baseada na presença ou não do auto-anticorpo ( Deighton; Criswell, 2006).

As provas de fase aguda da inflamação são utilizadas no acompanhamento do paciente reumatóide. A velocidade de hemossedimentação (VHS) é uma prova não específica que mede a extensão de queda das hemácias em uma coluna num dado intervalo de tempo. Pode reproduzir com proximidade uma resposta de fase inflamatória aguda. Na AR é mais usada para o monitoramento da atividade da doença,



apesar das suas limitações em pacientes idosos. Aproximadamente 5 a 10% dos pacientes com AR ativa podem ter a VHS normal (Pardini, 2001).

A proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda considerada um marcador sensível na monitoração da inflamação aguda. Tem um papel importante como imunomodulador. Por causa da sua capacidade de ativar complemento, neutrófilos, monócitos e macrófagos, a PCR está positiva na maioria dos pacientes com artrite reumatóide e é bastante útil na avaliação da doença e de sua resposta ao tratamento (Pardini, 2001).

## 1.1 Aspectos Clínicos

A artrite reumatóide é uma doença crônica que se caracteriza, clinicamente, por inflamação articular e periarticular acometendo preferencialmente as pequenas e médias articulações (Carvalho; Xavier, 2001). Acomete, principalmente, as articulações das mãos, de forma simétrica, acompanhada por rigidez matinal de uma hora ou mais. A fase inicial da doença pode durar de semanas a meses e o diagnóstico ficar indeterminado por um período razoável. Os sintomas iniciais, em alguns casos, podem se apresentar como febre, adinamia, emagrecimento e queda no apetite antes do aparecimento dos sintomas articulares. Os sintomas de dor, edema e rigidez matinal articular são predominantes (Carvalho; Xavier, 2001).

.Qualquer articulação diartrodial pode ser comprometida, mas as interfalangeanas proximais (IFPs), as metacarpofalangianas (MCFs), as metacarpianas os punhos e as metatarsianas são preferencialmente acometidas no início da doença. O comprometimento das articulações coxofemorais pode indicar um mau prognóstico da doença (Carvalho; Xavier, 2001).

A dor articular é mais importante de manhã e à noite, podendo ser acompanhada de sinais flogísticos com edema, calor, rubor e limitação nos movimentos. A intensidade da dor depende da gravidade, do tempo de evolução da atividade da doença e da disfunção causada pela instabilidade e deformidades das articulações.

A rigidez articular aparece preferencialmente nas primeiras horas da manhã ou após períodos prolongados de repouso e diferencia-se da observada em outras doenças reumáticas pelo tempo de duração da rigidez. Nas outras doenças reumáticas,

a presença de rigidez matinal maior ou igual há 60 minutos é incomum (Carvalho; Xavier, 2001).

A inflamação caracteriza-se por calor, com ou sem rubor, dor e limitação nos movimentos. A tumefação pode significar edema mole localizado, agudo ou hiperplasia sinovial ou mesmo distensão da cápsula articular, numa forma mais crônica. Sem tratamento, com tratamento inadequado ou mesmo com tratamento adequado, a evolução pode ser desfavorável. A diminuição da massa muscular periarticular é freqüente, principalmente, nos interósseos do dorso das mãos e na musculatura das coxas quando os joelhos são comprometidos. Os desvios dos eixos das articulações dos dedos das mãos, dos tornozelos, dos pododáctilos e dos joelhos aparecem como deformidades ao longo da evolução (Carvalho; Xavier, 2001).

Alguns pacientes evoluem com comprometimento sistêmico. Nestes, a literatura mostra uma relação com pior prognóstico, presença de nódulo reumatóide e alto título de fator reumatóide. A vasculite e o comprometimento de órgãos, como coração e pulmão, são temidos. O comprometimento ocular com esclerite, episclerite e evolução para uveíte anterior é infrequente podendo ser assintomático (Carvalho; Xavier, 2001).

A artrite reumatóide de aparecimento em idosos pode se apresentar mais abrupta com comprometimento das grandes articulações (Carvalho; Xavier, 2001).

O diagnóstico, através da expressão clínica da doença na fase inicial, pode ser difícil (Laurindo et al., 2002).

O colégio Americano de Reumatologia em 1987 elaborou sete critérios usados internacionalmente para auxílio na definição do diagnóstico da AR: 1- rigidez matinal com duração mínima de 1 hora; 2- artrite de três ou mais articulações; 3- artrite de articulações das mãos; 4- artrite simétrica; 5- presença de nódulo reumatóide; 6- presença do Fator reumatóide e 7- as alterações radiológicas. Para diagnóstico, considera-se a presença de pelo menos 4 dos 7 critérios presentes e os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por um período mínimo de 6 semanas (Laurindo et al., 2002).

## **1.2 Avaliação do paciente reumatóide**

A anamnese detalhada com uma revisão completa de todos os sistemas e o exame físico são peças-chave na avaliação do paciente. A intensidade e a duração da rigidez matinal e sintomas constitucionais, como fadiga, devem ser cuidadosamente

registrados. A avaliação do estado geral do paciente, o número de articulações acometidas, uma avaliação quantitativa da dor, o estado funcional, sinais objetivos de inflamação e identificação dos parâmetros de mau prognóstico são parâmetros úteis para o seguimento do paciente a longo prazo (Laurindo et al., 2002). Deve-se fazer um exame físico completo e particularmente, um exame detalhado das articulações com observação da forma, volume, hipotrofias, desalinhamento e nódulos. Nas articulações realizar a palpação observando a tumefação, a dor à digitopressão, o calor e crepitações. Na mobilidade passiva e ativa, observar a amplitude dos movimentos e suas limitações pela dor.

### 1.3 Avaliação funcional

Vários questionários têm sido utilizados para avaliar a capacidade funcional do paciente reumatóide. Três deles, o *Stanford Health Assessment Questionnaire (HAQ)*, *Medical Outcomes Study 36-short Form (SF36)* e *Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS-2)*, foram traduzidos e validados no Brasil e têm sido usados na prática clínica. Alguns são genéricos, aplicados em várias doenças e outros mais específicos, aplicados em determinada população de doentes (população de idosos) ou dirigidos a uma determinada função (capacidade física) (Ferraz et al., 1990). Steinbroker aplicou pela primeira vez questionários com a intenção de avaliar o estado funcional de pacientes com AR, incluindo na avaliação perguntas sobre a atividade da vida diária (Steinbroker et al 1949). O HAQ foi desenvolvido originariamente em 1978 por Fries, na Universidade de Stanford, traduzido para língua portuguesa e validado por Ferraz em 1990. Esta versão em português é semelhante à original e é um dos instrumentos mais conhecidos e valorizados em reumatologia tendo sido aplicado também em doenças não reumáticas (Ferraz et al., 1990). O HAQ pode ser respondido pelo próprio paciente ou por um entrevistador. Possui 20 questões sobre a execução de 8 componentes que avaliam aspectos distintos das atividades diárias. Cada um dos componentes apresenta 2 ou 3 questões relacionadas às atividades físicas da rotina diária. A reprodutibilidade deste questionário está bem demonstrada, justificando seu uso nas pesquisas e na prática clínica (Ferraz et al., 1990).

## 1.4 Atividade da doença

A avaliação da atividade da AR é um instrumento importante e norteador da conduta terapêutica a ser seguida no acompanhamento do paciente. Esta avaliação deve ser realizada periodicamente (Laurindo e col. 2002).

A subcomissão da ACR (*Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials*) estabeleceu parâmetros para avaliação da atividade da doença composto por sete variáveis: 1- Número de articulações inflamadas, 2- número de articulações dolorosas, 3- avaliação da dor pelo paciente por escala analógica, 4- avaliação global da atividade da doença pelo paciente e pelo médico, 5- avaliação da capacidade funcional, 6- provas de fase aguda e 7- avaliação radiológica (Felson et al 1995).

O DAS28 (Disease Activity Score) é um instrumento para avaliação da atividade da artrite reumatóide validado usado, frequentemente, em ensaios clínicos e na prática clínica, individualmente. Consiste na identificação do número de articulações dolorosas e do número de articulações edemaciadas de um total de 28 articulações examinadas, velocidade de hemossedimentação das hemácias e avaliação do estado geral do paciente através de escala analógica de zero a cem. Através de formulas predeterminadas pode se chegar a valores que irão determinar o escore de atividade da doença naquele momento específico. Escore, menor que 2,6 indicam remissão, maior ou igual a 2,6 e menor que 3,2 indicam baixa atividade do processo inflamatório; Maior ou igual a 3,2 e menor que 5,1 indica moderada atividade e maior ou igual a 5,1 atividade severa (Das-Score. NL [Homepage on the Internet]).

## 1.5 Avaliação radiológica

A avaliação radiológica é essencial no seguimento do paciente reumatóide para acompanhamento da evolução da doença com o tratamento instituído e para avaliar a indicação de tratamento cirúrgico e de possíveis complicações (Kaye, 1990). As alterações mais comuns encontradas na AR são: osteopenia periarticular, erosões, diminuição do espaço e desalinhamento. O primeiro trabalho que estabeleceu um padrão radiológico para AR, foi realizado em 1949 por Steinbrocker (Steinbrocker et al., 1949) seguidos por Kellgren 1956 (Kellgren, 1956), Freedman e Steinberg 1960

(Freedman et Steinberg, 1960). Em 1971 Sharp et al. introduziram um novo método que estabeleceu a análise de 27 áreas das mãos e punhos, sendo determinados escores para erosões e para diminuição do espaço articular (pinçamento) (Sharp et al. 1971). Em 1974, Larsen propôs um método de avaliação radiológica para múltiplas articulações, que foi publicado em 1977 no qual um único escore global é dado para cada articulação (Larsen et al., 1977). Em 1985, Sharp, em novo trabalho, determinou 17 áreas para avaliar erosões e 18 articulações para verificar diminuição do espaço (Sharp et al., 1985). A progressão rápida para erosões indica quadro mais agressivo, indicando pior prognóstico. O Rx simples é o método mais barato e acessível à população para avaliar o grau de lesão articular. Apesar disso, outros métodos de imagem possuem uma sensibilidade maior para detectar lesões ósseas não captadas no exame radiográfico simples. O US, a Tomografia computadorizada e a ressonância magnética são exemplos de métodos com maior sensibilidade. Em estudo recente, publicado no *“Arthritis research e therapy”* de 2006, os autores estudaram, radiologicamente, as articulações metacarpofalangianas (MCP) de 17 pacientes com artrite reumatóide e um grupo controle de saudáveis através da ultrasonografia (US), tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM). Esses pacientes haviam sido estudados pela radiografia simples e não apresentaram erosões. Esse trabalho demonstrou que o RX tem especificidade de 100% e sensibilidade de 19%. Os autores também concluíram que “as erosões ósseas detectadas pela US e RM em pacientes com artrite reumatóide, representam a perda de tecido calcificado com destruição da cortical e, portanto, podem ser consideradas como erosões ósseas verdadeiras” (Dohn, Ejbjerg et al., 2006).

## **OBJETIVOS**

---

## **2. OBJETIVOS**

1. Estudar a ativação endotelial em pacientes com artrite reumatóide, correlacionando marcadores de ativação endotelial ICAM-1, ET-1, vWF e VEGF com a atividade clínica e laboratorial da doença.
2. Avaliar possíveis correlações entre os níveis destes marcadores no soro, a presença do anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico e a gravidade da doença.

## **CASUÍSTICA E MÉTODO**

---



### **3. CASUÍSTICA E MÉTODO**

Este é um estudo transversal prospectivo com uma amostra de 38 pacientes que preencheram os critérios para classificação da AR estabelecido pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) de 1987, com idade  $\geq 18$  anos, que são acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Hospital Escola Dr. José Carneiro da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL) e um grupo controle de 24 indivíduos saudáveis. No grupo de pacientes eram 32 do sexo feminino (84,2%) e 6 do sexo masculino (15,8%). No grupo controle eram 21 do sexo feminino (87,5%) e 3 do sexo masculino (12,5%), não reumatóides não possuindo no momento do estudo nenhuma doença crônica.

Foram excluídos da pesquisa os pacientes e controles diabéticos, hipertensos, portadores de insuficiência renal crônica e insuficiência cardíaca.

Os 38 pacientes com artrite reumatóide, escolhidos foram convidados a participar da pesquisa durante as consultas de rotina no ambulatório de reumatologia do Hospital Escola Dr. José Carneiro, após aprovação do projeto pelo comitê de ética da UNCISAL (Nº 277).

#### **3.1 Avaliação Clínica**

Após ciência e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO I), o paciente foi submetido a anamnese, exame físico articular (ANEXO IV). Para esta avaliação, foram colhidos dados demográficos, queixas gerais e específicas, levado em conta o estado geral do paciente, o exame das articulações e os parâmetros abaixo.

### **3.1.1 Classe funcional**

Determinada a classe funcional de Steinbroker segundo os critérios do Colégio Americano de Reumatologia de 1991 (ANEXO III).

### **3.1.2 O Health Assessment Questionnaire (HAQ)**

A capacidade funcional foi avaliada através do HAQ (Ferraz, 1990). Os pacientes preencheram o questionário ou quando necessário, os mesmos foram preenchidos pelo pesquisador.

O questionário é composto por 8 componentes, cada um com 2 a 3 perguntas. Cada pergunta recebe uma nota de acordo com o nível de dificuldade para executar as atividades físicas, em uma escala de 4 pontos: Sem qualquer dificuldade = 0; Com alguma dificuldade = 1; Com muita dificuldade = 3. A nota do componente equivale a maior nota observada em uma das 2 ou 3 questões. O escore final é dado pela média aritmética dos 8 componentes. O escore é classificado dentro de escala numérica dividida em três faixas: valores < 1, 1 a 2 e > 2 (ANEXO V).

### **3.1.3 Exame do estado geral e articular do paciente**

Foi realizado anamnese com ênfase para dor articular e outros sinais e sintomas relacionados, presença e duração de rigidez matinal. Na presença de dor, essa foi graduada com uma escala analógica de 0 a 100. Também foi investigado o uso de drogas específicas atuais e pregressas.

O exame individual de cada articulação, com atenção quanto a presença ou ausência de rubor e edema articular, atrofia e a presença de desalinhamento articular ou outras deformidades, aumento da temperatura, sensibilidade à digitopressão, dor e limitação aos movimentos. Com isso foi quantificado o total de articulações comprometidas. Todos os dados foram registrados no protocolo clínico (ANEXO IV).

### 3.2 Avaliação da atividade da doença

O DAS 28 foi usado como instrumento para definir a atividade da doença. Para a avaliação foi usado um questionário (ANEXO VI) que envolve os seguintes itens:

1. Número de articulações edemaciadas num total de 28 articulações.
2. Número de articulações doloridas à digitopressão num total de 28 articulações e durante o movimento da articulação (ombros, cotovelo e punhos).
3. Valor do VHS.
4. Avaliação da atividade de doença pelo paciente (0-100).

Para definir o resultado do DAS foi usado o programa *DAS-28 v1.1-beta para DAS28 com 4 variáveis (Alfons & Michiel)* (ANEXO VII) sendo então, calculado o escore.

**Valores:**

- < 2,6 – remissão
- ≥ 2,6 e < 3,2 – baixa atividade
- ≥ 3,2 e < 5,1 – moderada atividade
- ≥ 5,1 - alta atividade.

### 3.3 Avaliação Laboratorial

A coleta do sangue foi realizada em data pré-determinada no Laboratório Central de Análises da UNCISAL. Cada paciente foi submetido a punção simples de 30ml de sangue por agulha vacutainer “Becton Dickinson” (BD) (USA) 25x7 em veia periférica de um dos membros superiores.

**Material usado para cada punção:**

- Agulha vacutainer (BD - 25x7)
- 2 tubo sem anti-coagulante de 10ml (tampa vermelha)
- 2 tubos de 5,0 ml com citrato (BD 13/17mm) (tampa azul)
- 3 tubos de 5,0 ml com EDTA (BD) (tampa roxa)
- Álcool a 70% (Esoflone) para limpeza no local a ser puncionado
- Algodão
- 1 par de luva de látex para procedimento.

**Técnica:**

**Tubo seco:** 10ml de sangue, em repouso por 30 minutos, centrifugado por 10 minutos em rotação de 2500 RPM, aliqotado 3ml de soro, divididos em eppendorf de 1 ml. Congelado, rapidamente, “*flash freezer*” em nitrogênio líquido e mantido em freezer a -70°C.

**Tubo com citrato:** 5ml de sangue, centrifugado 4 minutos em rotação de 2500 RPM, aliqotado 3ml de plasma, divididos em ependof de 1ml. Congelado rapidamente “*flash freezer*” em nitrogênio líquido e mantido em freezer a -70°C.

**Tubo com EDTA:** 5ml de sangue, centrifugado por 4 minutos em rotação de 2500 RPM, aliqotado 3 ml do plasma. Congelado, rapidamente, “*flash freezer*” em nitrogênio líquido e mantido em freezer a -70°C.

**3.3.1 Medida da VHS**

Pelo método de Westergren com medida em 1 hora.

**Valor de referência:** 0 a 15 mm na primeira hora para homens.

0 a 20 mm na primeira hora para mulheres.

**3.3.2 Medida da PCR**

**Técnica usada:** Turbidimetria.

Kit com reagente-*Biosystems S.A.* (Barcelona-Espanha).

**Valor de referência:**  $\leq 6$ mg/l.

**Princípio do método:** A proteína C-reativa (PCR) presente na amostra do paciente reage com anticorpos PCR anti-humanos. O imunocomplexo resultante gera uma turbidez que é proporcional à concentração de PCR e pode ser medido fotométricamente.

### 3.4 Detecção do fator reumatóide

Técnica usada foi a nefelometria.

**Valor de referência:** < 40UI/mL.

Por automação; “*Image / Beckman-Coulter(USA)*”

#### 3.4.1 Análise do anticorpo anti citrulinado cíclico (anti-CCP)

A medida foi realizada empregando o kit “**QUANTA Lite™ CCP IgG ELISA**” “*INOVA Diagnostics, Inc.*”

**Valores de referência:** < 20

O antígeno usado é um peptídeo citrulinado cíclico sintético com alta sensibilidade e especificidade na detecção de anticorpos em pacientes com artrite reumatóide. Os poços da placa de poliestireno são cobertos com antígeno CCP sintético (12-1 x 8 poços). O soro do paciente diluído e o soro controle pré-diluído são adicionados nos poços separados. Na primeira incubação os auto-anticorpos específicos no soro ligam-se ao antígeno na superfície da placa. Os poços são lavados para remoção dos componentes livres ou ligados não especificamente. É adicionado em cada poço, o conjugado marcado com enzima peroxidase (anti-IgG humana-HRP). Na segunda incubação, o conjugado liga-se à IgG, previamente ligada ao CCP sintético da superfície da placa,. É feita uma nova lavagem acrescenta-se o substrato cromogênico (solução de tetrametilbenzidina-TMB) e após 30 minutos é acrescentada solução de bloqueio para finalizar a reação. O ensaio é avaliado, espectrofotometricamente, através da medição e comparação da intensidade da cor desenvolvida nos poços dos pacientes com a cor nos poços controles. Para determinação quantitativa da concentração de auto-anticorpos anti-CCP, os valores obtidos para cada amostra são estimados por interpolação em curva construída com padrões conhecidos.

### 3.4.2 Análise da molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1)

A medida foi realizada empregando o kit: **sICAM-1 R&D Systems, Inc.:**

**Valores de referência:** 115 a 306 ng/mL.

**Sensibilidade:** 5,0 ng/mL

**Linearidade:** 5 - 900ng/mL

**Controle:** Range de Bula: 196 a 290 ng/mL.

De acordo com o fabricante este ensaio usa a técnica de imunoenensaio enzimático quantitativo por “sandwich”, ELISA.

**Princípio do ensaio:** Anticorpo monoclonal específico para ICAM-1 é colocado previamente sobre um placa. Amostra de controle e conjugado (HRP - Conjugado) são pipetados para dentro dos poços e qualquer ICAM-1 presente ficará retido entre o anticorpo imobilizado e a enzima ligada ao anticorpo monoclonal específico para o ICAM-1. Segue-se com uma lavagem para remover qualquer outra substancia e/ou anticorpos reagentes com a enzima. Após a lavagem é adicionado um substrato (solução de tetrametilbenzidina-TMB) nos poços desenvolvendo uma coloração cuja intensidade desta será proporcional a quantidade de ICAM-1 presente. O processo é interrompido por solução bloqueadora (ac. Sulfúrico) e avaliado espectrofotometricamente através comparação da intensidade da cor desenvolvida nos poços dos pacientes com a cor nos poços controles. Para determinação quantitativa da concentração de ICAM-1, os valores obtidos para cada amostra são estimados por interpolação em curva construída com padrões conhecidos. Para os pacientes e controle, a concentração de ICAM-1 determinada pela curva modelo deve ser multiplicada pelo fator de diluição (x 20).

### 3.4.3 Análise do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)

A medida foi realizada empregando o kit: **Human VEGF Imunoassay, R&D Systems, Inc.**

**Valor de referência:** 62 - 707 pg/ml.

De acordo com o fabricante este ensaio usa a técnica de imunoensaio enzimático quantitativo por “sandwich”, ELISA.

**Princípio do ensaio:** Anticorpo monoclonal específico para VEGF é colocado previamente sobre uma placa. Amostra de controle e conjugado (HRP - Conjugado) são pipetados para dentro dos poços e qualquer VEGF presente ficará retido entre o anticorpo imobilizado e a enzima ligada ao anticorpo monoclonal específico para o VEGF. Segue-se com uma lavagem para remover qualquer outra substância e/ou anticorpos reagentes com a enzima. Após a lavagem é adicionado um substrato (solução de tetrametilbenzidina-TMB) nos poços desenvolvendo uma coloração cuja intensidade desta será proporcional a quantidade de VEGF presente. O processo é interrompido por solução bloqueadora (ac. Sulfúrico) e avaliado espectrofotometricamente através comparação da intensidade da cor desenvolvida nos poços dos pacientes com a cor nos poços controles. Para determinação quantitativa da concentração de ICAM-1, os valores obtidos para cada amostra são estimados por interpolação em curva construída com padrões conhecidos.

### 3.4.4 Análise da endotelina-1 (ET-1)

A medida foi realizada empregando o kit: **Human Endotelin-1 Imunoassay, R&D Systems, Inc.**

**Valor de referência:** Até 1,0pg/ml

**Técnica empregada:** imunoensaio quantitativo - ELISA

**Princípio do ensaio:** **Idem ao ensaio com a ICAM e VEGF.**

Como este ensaio não é devidamente apropriado para ser realizado diretamente com o plasma coletado, deve ser realizado o procedimento de extração da ET-1 que dura um tempo total de 5 horas, da seguinte forma:

1. Adicionar 1 mL de plasma e 1,5 mL de solvente extrator (acetona: 1 N HCL: Água (40:1:5) em um tubo de propileno.(Merck KGaA, Darmstadt).
  2. Inversão do tubo para misturar.
  3. Centrifugar por 20 minutos a 2000 x g e refrigerar a 2 - 8°C.
  4. Decantar o sobrenadante.
  5. Secar o sobrenadante em centrífuga de evaporação no mínimo de 4 horas a 37°C.
  6. Reconstituir o precipitado em 0,25ml de diluente da amostra e vortex (Phoenix-Ind. Com. Brasil) por 30 segundos. A amostra reconstituída deverá permanecer durante a noite estocada a 2 - 8°C, para se obter bom resultado do procedimento.
  7. A amostra poderá permanecer durante à noite estocada a 2 - 8°C, mas a realização imediata produz melhores resultados.
- A leitura de todas as placas de ELISA foi realizada pela leitora de placa Riber 520/ORGANON TEKNIKA (USA).

### 3.4.5 Análise do Fator vonWillebrand (vWF)

Para determinação da medida do antígeno do fator foi usado o **Kit de teste von Willebrand Ag da Dade Behring:**

**Valor de referência:** 50 - 160%.

**Técnica empregada:** Imunoturbidimetria (CA-1500/Sysmex Corp.; Kobe, Japão)

**Princípio do ensaio:** Misturando as amostras que contêm o antígeno de Von Willebrand com o reagente, as pequenas partículas de poliestireno dotadas de anticorpo, aglomeram-se. Os anticorpos específicos combinam-se com as partículas através de ligações covalentes. Seguidamente, esta aglutinação é determinada turbidimetricamente pelo aumento da turbidez. A turbidez é diretamente proporcional ao nível de antígeno da amostra. Após o aparelho de medição da coagulação da Dade Behring ter sido carregado com as amostras, o teste é executado automaticamente e os resultados são visualizados.

Todos os métodos utilizados são totalmente validados e os ensaios mais novos foram validados (ANEXO XII) e realizados no setor de “Validação, Desenvolvimento Metodológico e Pesquisa” da “AFIP-Medicina Laboratorial”, São Paulo-SP.



### 3.5 Exame Radiográfico

Foram realizadas radiografias simples das mãos e punhos dos 38 pacientes em incidência pósterio-anterior. Os exames foram realizados com diferença de tempo de no máximo 3 meses antes ou depois da coleta do sangue. As radiografias foram analisadas por dois radiologistas, professores da disciplina de radiologia da UNCISAL. Os dados obtidos em cada avaliação foram analisados pelo método de Sharp (modificado).

Segundo mostra o método de Sharp (modificado) (Sharp et al.,1985), 34 áreas das mãos e punhos foram avaliadas quanto à presença de erosão e 36 articulações quanto à diminuição do espaço articular (pinçamento) (ANEXO VIII). Foram atribuídos escores de 0 a 5 para erosão e de 0 a 4 para diminuição do espaço articular (tabela abaixo).

O escore máximo para erosão é de 170 (85x2) e para pinçamento articular é de 144 (72x2), dando um total do método de 314 (Sharp et al., 1985). (ANEXO VIII).

Apesar de ter maior trabalho para avaliar separadamente os locais por este método, ele oferece boa reprodutibilidade e melhor sensibilidade em detectar mudanças com o tempo, estas evidências foram confirmadas por Cuchacivich (Cuchacivich et al., 1992).

### 3.6 Método da análise estatística

Foi feita a análise descritiva de todas as variáveis do estudo. As variáveis qualitativas foram apresentadas em termos de seus valores absolutos e relativos (Berquó et al., 1981); (Morettin; Bussab, 1982). As variáveis quantitativas foram apresentadas em termos de seus valores de tendência central e de dispersão.

Para se verificar a associação entre duas variáveis qualitativas foi utilizado o *teste de Qui-quadrado*.

Para se comparar os dois grupos foram utilizados o *teste t* (Berquó et al., 1981); (Kleinbaum et al., 1998) (paramétrico) para as variáveis que apresentaram distribuição normal (*teste de Kolmogorov-smirnov*) (Siegel, 1981) e homogeneidade das variâncias (*teste de Levene*) (Berquó et al., 1981), caso contrário foi utilizado o *teste U de Mann-Whitney* (não paramétrico) (Siegel, 1981).

Para análise de correlação entre variáveis quantitativas foi utilizado o *cociente de correlação de Spearman*.

O nível de rejeição da hipótese de nulidade ou nível de significância estatística foi considerado em 0,05 ou 5%.

Para armazenamento dos dados e confecção dos testes estatísticos foi usado o software **SPSS (Statistical Package for Social Sciences)**, versão 15.0.

## **RESULTADOS**

---

## 4. RESULTADOS

Foram classificados após análise dos critérios de inclusão e exclusão, 38 pacientes com artrite reumatóide (grupo reumatóide) que preenchiam os critérios da ACR (*American College of Rheumatology*) para classificação de AR e 24 indivíduos não reumatóides (grupo controle).

O grupo reumatóide foi formado por 32 indivíduos do sexo feminino (84,2%) e 6 do sexo masculino (15,8%) numa razão feminino / masculino de 5,3:1. A idade mínima foi de 19 anos e a máxima de 81 anos com média de idade de  $51,97 \pm 12,50$  anos e com mediana de 48 anos. Em relação à raça, 21 pacientes eram pardos (55,30%), 15 brancos (39,5%) e 2 negros (5,2%) (ANEXO IX).

No grupo controle, 21 indivíduos (87,5%) eram do sexo feminino e 3 (12,5%) do sexo masculino, com idade mínima de 30 anos e máxima de 68 anos. A idade média do grupo controle foi de  $49 \pm 9,36$  anos, com mediana de 48 anos. Em relação a raça, 15 indivíduos eram pardos (62,5%), 8 eram brancos (33,3%) e 1 negro (4,2%). A tabela 1 apresenta a medida descritiva dos dados demográficos dos grupos reumatóide e controle (ANEXO IX).

**Tabela 1. Medida descritiva dos dados demográficos entre o grupo controle e o grupo reumatóide.**

VARIÁVEL	DESCRIÇÃO	CONTROLE	REUMATÓIDE
Sexo	feminino	21 (87,5%)	32 (84,21%)
	masculino	03 (12,5%)	06 (15,8%)
Raça	parda	15 (62,5%)	21 (55,30%)
	branca	08 (33,3%)	15 (39,5%)
	negra	01 (4,2%)	02 (5,2%)
Idade	mínima	30	19
	máxima	68	81
	média $\pm$ DP	$48,62 \pm 9,36$	$52,0 \pm 12,5$
	mediana	48	51

Em relação à presença de tabagismo, no grupo controle nenhum participante era tabagista. No grupo reumatóide apenas um paciente era tabagista (2,6%) e 37 (97,4%) não eram tabagistas.

Nos achados clínicos observados no grupo reumatóide, 31 pacientes (81,6%) tinham dor articular, 11 (28,9%) referiram rigidez matinal até 30 minutos, 14 (36,84%) rigidez matinal até 1 hora e 10 (26,32%) rigidez matinal maior que 1 hora. Ainda na observação dos sinais e sintomas, 20 pacientes (52,63%) apresentavam articulações com aumento da temperatura cutânea, 21 (55,3%) articulações edemaciadas, 22 (57,9%) atrofia per articular e 13 pacientes (34,2%) seqüela de deformidade causada pela artrite reumatóide. Um paciente (2,6%) apresentava nódulo reumatóide e nenhum paciente apresentava comprometimento em outro órgão.

O tempo mínimo de doença foi 3 meses e o máximo 276 meses (23 anos). O tempo médio de doença foi de  $67,97 \pm 66,62$  meses, com mediana de 60 meses. Em relação ao tempo de doença, o grupo reumatóide comportou-se da seguinte maneira: 12 pacientes (32,6%) com AR há menos de 24 meses, 13 (34,2%) entre 24 e 60 meses e 13 (34,2%), como mostra a figura 1. A distribuição individual do tempo de evolução da doença encontra-se no anexo IX.

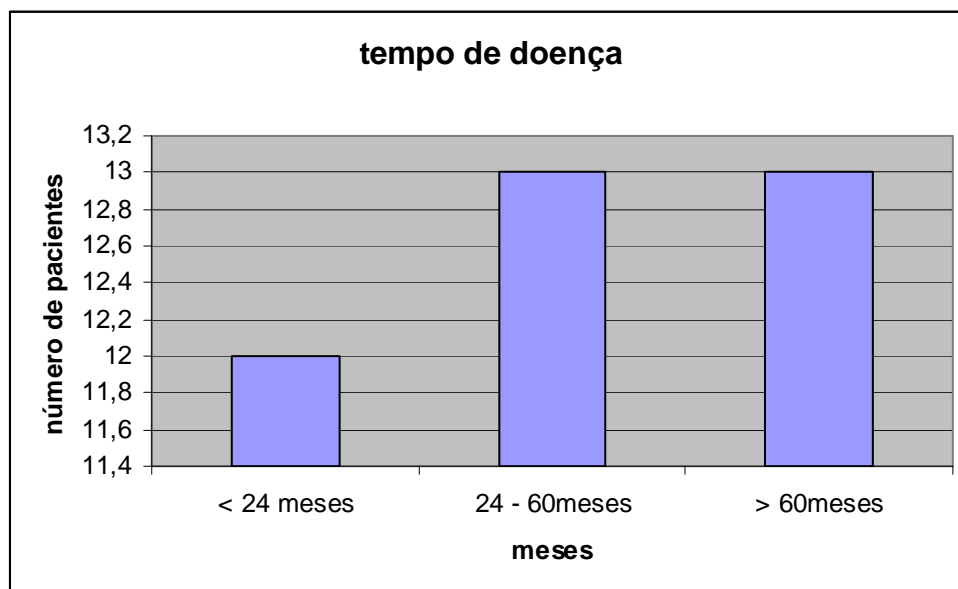


Figura 1. Distribuição do tempo de evolução da doença no grupo reumatóide.

Em relação ao grau de incapacidade funcional, baseado no HAQ, o grupo reumatóide estava distribuído em 11 pacientes (28,5%) com escore < que 1, 21

pacientes (55,3%) entre 1 e 2 e 6 pacientes (15,8%) maior que 2, como demonstrado na figura 2.

A média dos scores foi  $1,33 \pm 0,68$ , com mediana de 1,31. A tabela com a distribuição individual encontra-se no ANEXO IX.

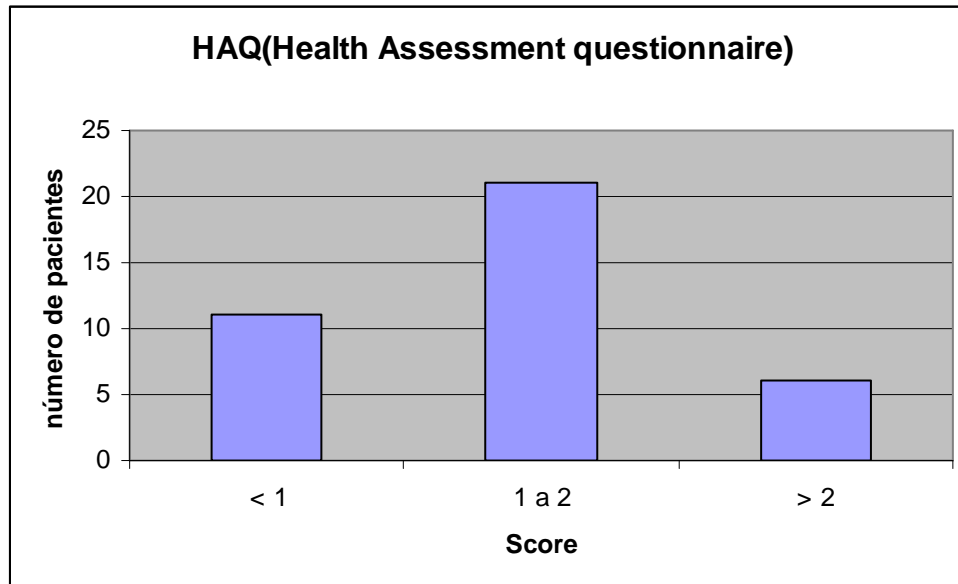


Figura 2. Distribuição da amostra de 38 pacientes em relação ao score do HAQ.

A avaliação da classe funcional do grupo reumatóide mostrou 5 pacientes (13,2%) na classe I, 15 pacientes (39,5%) na classe II, 14 pacientes (36,8%) na classe III e 04 pacientes (10,5%) na classe IV. Estes dados estão demonstrados na figura 3 e na tabela 2. A distribuição individual encontra-se no ANEXO IX.

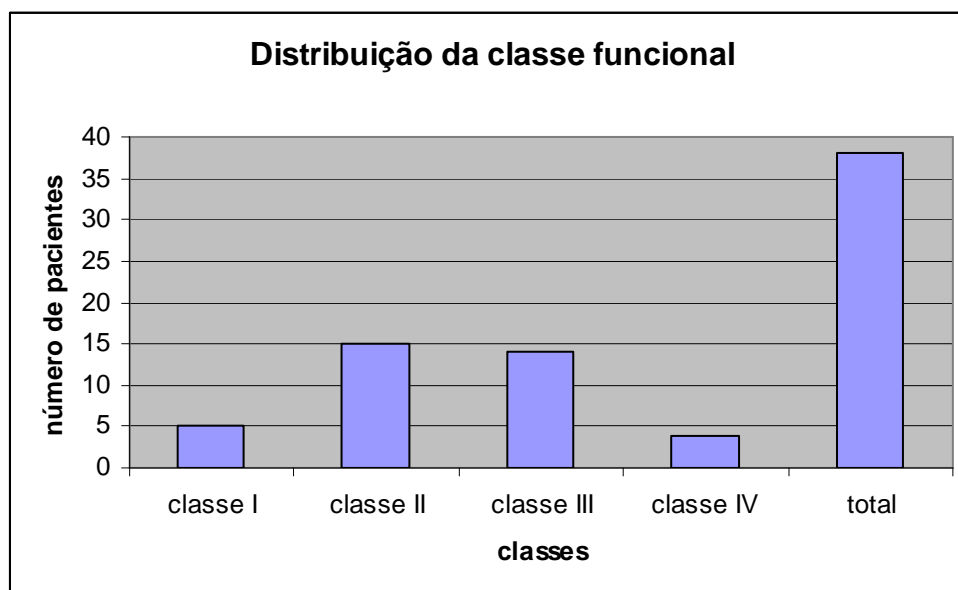


Figura 3. Distribuição da classe funcional dos 38 pacientes estudados.

Os resultados do DAS 28 mostraram que, 8 pacientes (21%) obtiveram escore < 2,6, 6 pacientes (15,8%) com escore  $\geq 26 < 3,2$ , 20 pacientes (52,6%) com escore  $\geq 3,2 < 5,1$  e 4 pacientes com escore  $\geq 5,1$ . Portanto, 30 pacientes (78,9%) estavam em atividade da doença e 8 (21%) estavam fora de atividade conforme demonstrado na tabela 2. A distribuição individual do DAS 28 encontra-se no ANEXO IX.

#### 4.1 Análise radiográfica

A análise radiográfica realizada por radiografias simples em posição pósterio-anterior das mãos e punhos dos 38 pacientes mostrou diminuição do espaço articular (pinçamento) em 36 pacientes (94,7%) e erosões em 29 pacientes (76,3%). O escore total (pinçamento + erosão) teve valor máximo de 100 e o mínimo de 0 com média de  $31 \pm 20,8$ . Esses dados estão apresentados na tabela 2 e a distribuição individual do escore total, do escore de pinçamento e erosão estão no ANEXO IX.

Na tabela 2 estão apresentadas características clínicas e radiológicas relacionadas à atividade e gravidade no grupo reumatóide distribuído por sexo.

**Tabela 2. Características clínicas e radiológicas do grupo reumatóide por sexo.**

VARIÁVEL	SEXO	
	Feminino n=32	Masculino n=6
Tempo de doença	74 $\pm$ 70	34 $\pm$ 30
HAQ	1,1 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,7
Classe funcional		
I	3 (9,4%)	2 (33,3%)
II	12 (37,5)	3 (50%)
III	14 (43,75%)	1(16,7%)
IV	4 (12,5%)	0
DAS28	3,7 $\pm$ 1,1	4,0 $\pm$ 1,2
Sharp: Escore total	33,6 $\pm$ 21,2	20 $\pm$ 16,3

**Média  $\pm$  desvio padrão; Valor absoluto e relativo.**

## 4.2 Análise laboratorial

A velocidade de hemossedimentação (VHS) estava alterada em 84,4% dos pacientes reumatóides do sexo feminino (n=32) e 66,7% do sexo masculino (n=6), apresentando valor mínimo de 03mm e o máximo de 100mm, com média  $37,4 \pm 24,3$ mm.

No grupo controle, a VHS estava alterada em 19% dos participantes do sexo feminino (n=21) e 33,3% do sexo masculino (n=3). O valor mínimo foi de 01mm e o máximo de 28mm, a média foi  $9,6 \pm 8,06$ mm. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p = <0,001$ . A distribuição individual está demonstrada nos ANEXOS X e IX.

A proteína C reativa (PCR) estava alterada em 34,4% dos pacientes reumatóides do sexo feminino e 33,3% do sexo masculino. O valor mínimo foi 6, o máximo 96 e a média foi  $14,65 \pm 21,19$ . No grupo controle, 12,5% dos participantes apresentaram a PCR alterada, todos eram do sexo feminino. O valor mínimo foi 5 e o máximo 8 com média de  $5,21 \pm 0,72$ . A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p < 0,001$ . A distribuição individual está apresentada nos ANEXOS X e IX.

A distribuição do valor total e a média da VHS e PCR, por sexo, estão apresentadas na tabela 3.

**Tabela 3. Distribuição da VHS e PCR no grupo controle e reumatóide.**

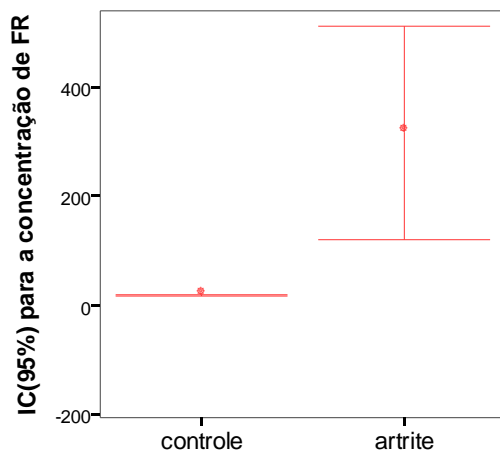
VARIÁVEL	CONTROLE (n=24)	REUMATOIDE (n=38)	p
VHS (n)	4	31	
Mínimo (mm)	1	3	<0,001
Máximo (mm)	28	100	
Média $\pm$ DP	$9,6 \pm 8,0$	$37 \pm 24$	
PCR	3	13	
Mínimo mg/L	5	6	<0,001
Máximo mg/L	8	96	
Média $\pm$ DP	$5,2 \pm 0,7$	$14,7 \pm 21,2$	

(Mann-Whitney)

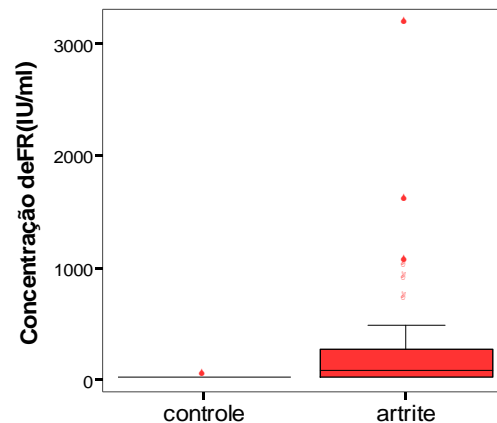


O FR foi positivo em 62,5% reumatóides do sexo feminino e 50% do sexo masculino. Não houve significância na associação do FR com o sexo. O valor mínimo do resultado foi 19U/mL, o máximo de 3180U/mL e a média de  $316,6 \pm 597,1$ U/mL.

Nenhum indivíduo do grupo controle apresentou FR positivo (valor mínimo de 19U/mL, máximo de 34U/mL e média de  $19,62 \pm 3,06$ U/mL). A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p < 0,001$ . Observe a tabela 4 e as figuras 4 e 5. A distribuição individual está nos ANEXOS IX e X.



**Figura 4. Box plot da concentração de FR em controle e reumatóides**



**Figura 5. Média e intervalo de confiança da concentração de FR em controles e reumatóides**

O anti-CCP estava positivo 62,5% dos reumatóides do sexo feminino e 66,7% do sexo masculino. Não houve significância na associação do anti-CCP com o sexo. O valor mínimo do resultado foi de 1,0U/dl e o valor máximo foi de 250U/dl com média de  $97,63 \pm 95,58$ U/dL.

No grupo controle, o anti CCP foi positivo em 01 participante (4,2%), do sexo feminino. O valor mínimo do resultado foi 0,99U/dl e o valor máximo de 26,00U/dl com média de  $4,99 \pm 5,56$ U/dL. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p < 0,001$ . Observe as figuras 6 e 7.

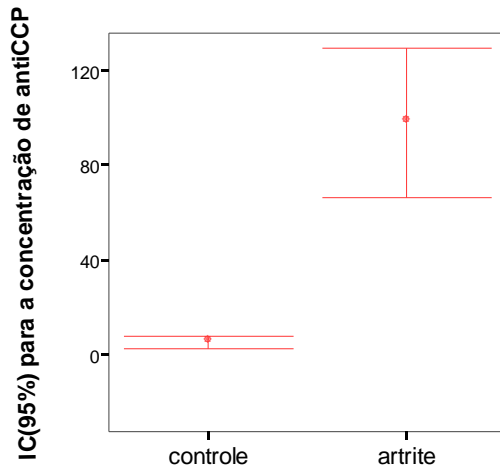


Figura 6. Box plot da concentração de anti CCP em controle e reumatóides

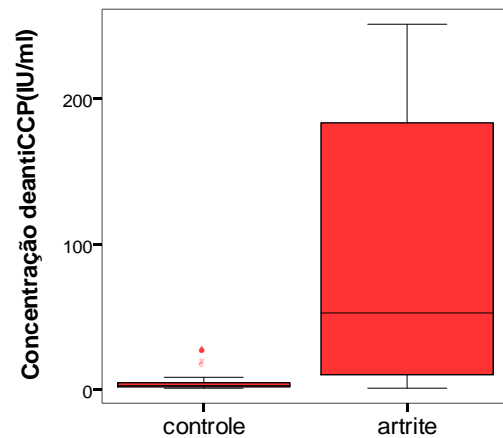


Figura 7. Média e intervalo de confiança da concentração de anti-CCP em controles e reumatóides

Na tabela 4 está demonstrado a distribuição dos auto-anticorpos no grupo controle e reumatóide .

Tabela 4. Distribuição dos auto-anticorpos no grupo controle e reumatóide.

VARIÁVEL	CONTROLE (n=24)	REUMATÓIDE (N=38)	P
FR (n)	0	23	
Mínimo (UI/mL)	19	19	<0,001
Máximo (UI/mL)	34	3180	
Média ± DP	19,6 ± 3,3	316,6 ± 597	
Anti-CCP	1	20	
Mínimo (UI/mL)	0,99	0,99	<0,001
Máximo (UI/mL)	26	251	
Média ± DP	5,0 ± 5,6	97,8 ± 95,9	

(Mann-Whitney)

O Fator de Von Willebrand (vWF) estava positivo em 62,5% dos pacientes reumatóides do sexo feminino (n=20) e 50% do sexo masculino (n=3). O valor mínimo encontrado foi de 67, o valor máximo de 1510 e média de 275,28 ± 263,26.

No grupo controle, o vWF foi positivo em 38% dos participantes do sexo feminino (n=8) e 33,3% do sexo masculino (n=1). O valor mínimo encontrado foi de 62, o valor máximo de 296 e a média de  $155,58 \pm 63,23$ . A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p= 0,004$ . Observe as figuras 8 e 9.

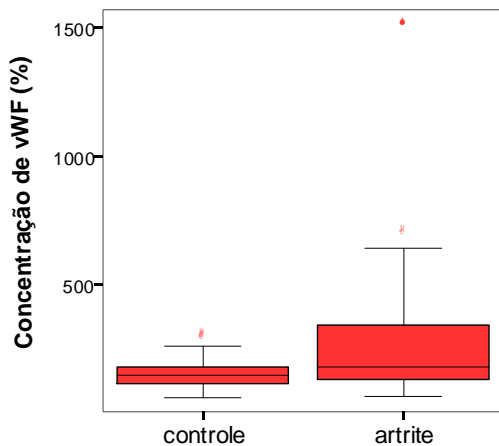


Figura 8. Box plot da concentração de vWF em controles e reumatóides.

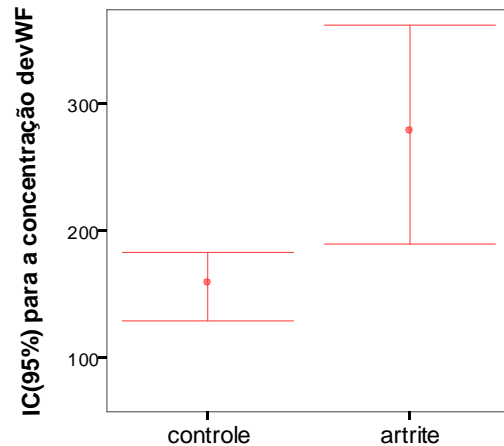
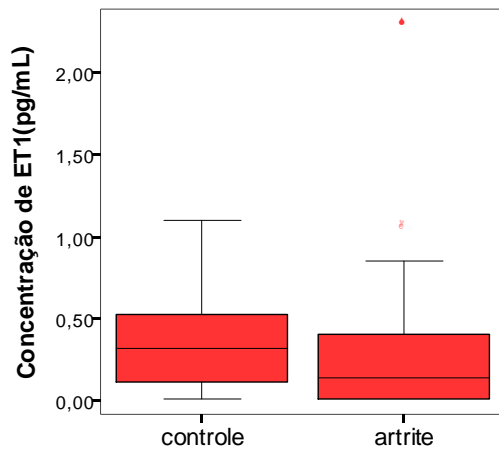
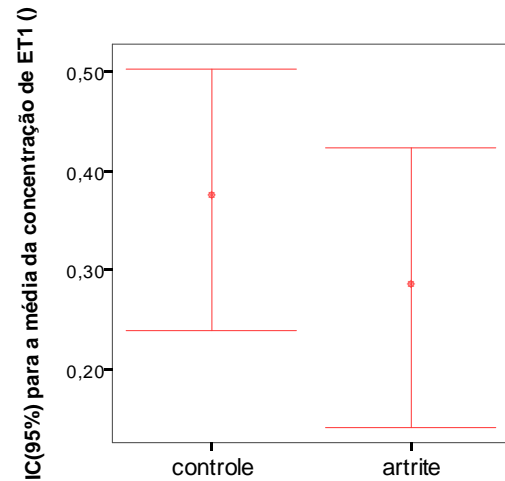


Figura 9. Média e intervalo de confiança da concentração de vWF em controles e reumatóides.

A endotelina-1(ET-1) foi positiva em 1 indivíduo (2,63%) do grupo reumatóide e em 1 participante (4,17%) do grupo controle. O valor mínimo no grupo reumatóide foi 0,01, o valor máximo 2,29 e a média  $0,28 \pm 0,42$ . Estes valores ficaram muito próximos àqueles encontrados no grupo controle, com valor mínimo de 0,01, máximo de 1,10 e média  $0,37 \pm 0,31$ . Dessa forma, não houve diferença estatística entre os 2 grupos. Observe as figuras 10 e 11.



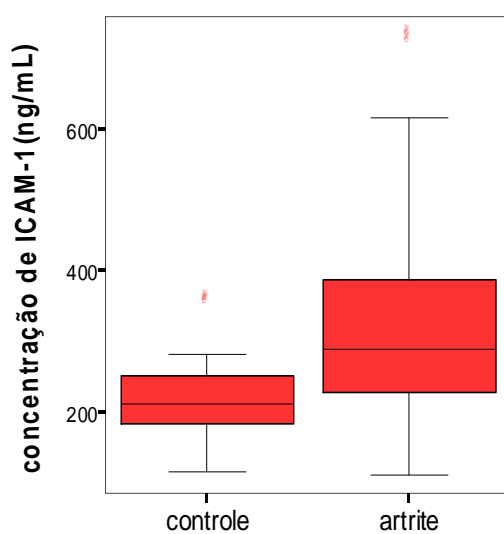
**Figura 10. Box plot da concentração de ET-1 em controle e reumatóides.**



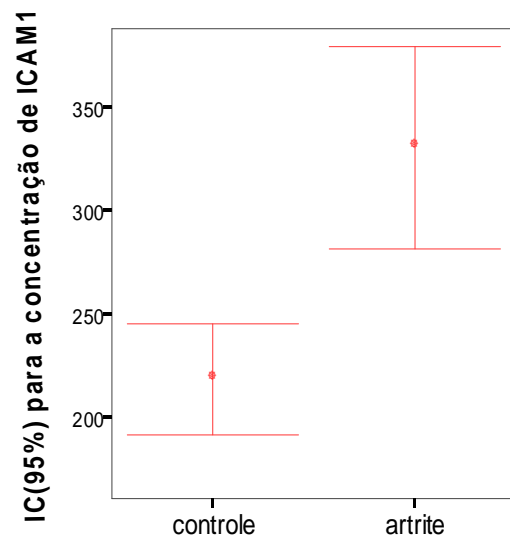
**Figura 11. Média e intervalo de confiança da concentração de ET-1 em controles e reumatóides.**

A molécula de adesão intercelular (ICAM-1) no grupo reumatóide foi positiva em 40,6% dos pacientes do sexo feminino (n=13) e 50% do sexo masculino (n=3). O valor mínimo foi 109ng/mL, o valor máximo 735ng/mL e a média  $330 \pm 150$  ng/mL.

No grupo controle, o ICAM-1 foi positivo, somente, em 2 indivíduos (8,33%), do sexo feminino, apresentando valor mínimo de 114ng/mL, valor máximo de 358ng/mL e média de  $218 \pm 64,23$  ng/mL. A diferença entre os dois grupos foi estatisticamente significativa,  $p=0,001$ . Observe as figuras 12 e 13.



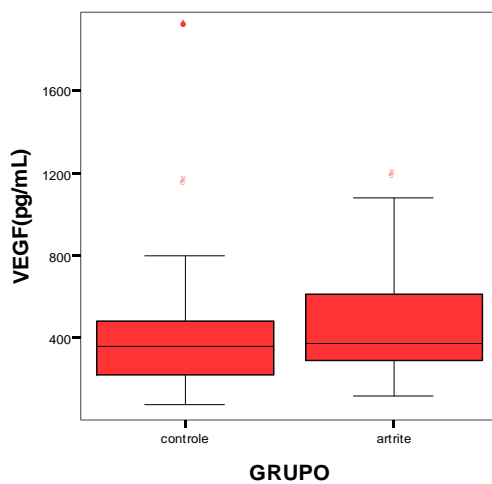
**Figura 12. Box plot da concentração de ICAM-1 em controle e reumatóides**



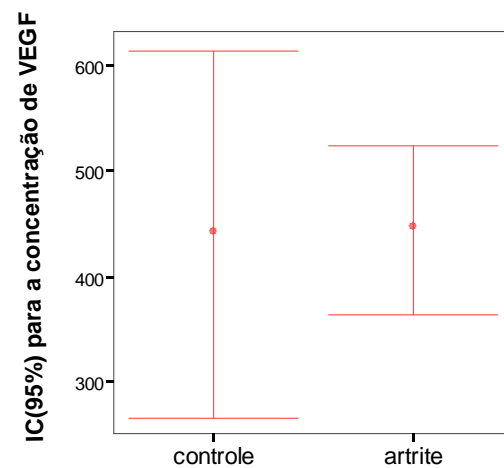
**Figura 13. Média e intervalo de confiança da concentração de ICAM-1 em controles e reumatóides.**

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) estava positivo em 6,25% dos pacientes do sexo feminino (n=2) e 16,7% do sexo masculino (n=1). O valor mínimo foi 119pg/mL, o valor máximo 1180pg/mL e média  $443,86 \pm 242$  pg/mL.

No grupo controle, o VEGF foi positivo em 03 participantes (12,5%), todos do sexo feminino (14,3%). O valor mínimo foi 5pg/mL, o valor máximo 1910pg/mL e média  $421,08 \pm 402,04$  pg/mL. Não houve diferença estatística entre os dois grupos, p=ns. Observe as figuras 14 e 15.



**Figura 14. Box plot da concentração de VEGF em controle e reumatóides**



**Figura 15. Média e intervalo de confiança da concentração de VEGF em controles e reumatóides**

Na tabela 5, está demonstrada a distribuição dos marcadores de disfunção endotelial no grupo controle e reumatóide.

**Tabela 5. Distribuição dos marcadores de disfunção endotelial no grupo controle e reumatóide.**

VARIÁVEL	CONTROLE n=24	REUMATOIDE n=38	P
vWF (50-160%)	9	23	
Mínimo	62	67	0,03
Máximo	296	1510	
Média ± DP	156 ± 63	273 ± 264	
ET-1(≤ 1,0pg/mL)	1	1	
Mínimo (pg/mL)	0,01	0,01	ns
Máximo (pg/mL)	1,1	2,29	
Média ± DP	0,4 ± 0,3	0,28 ± 0,4	
ICAM-1(≤ 306ng/mL)	2	13	
Mínimo (ng/mL)	114	109	0,001
Máximo (ng/mL)	358	735	
Média ± DP	218 ± 64	330 ± 150	
VEGF (≤ 707pg/mL)	3	2	
Mínimo (pg/mL)	5	119	ns
Máximo (pg/mL)	1910	1180	
Média ± DP	421 ± 402	444 ± 242	

**(teste-T)**

O escore do HAQ apresentou correlação estatisticamente significativa, no grupo reumatóide, com a VHS, a PCR e o DAS 28.

A VHS estava aumentada em 72,7% dos pacientes (n=11) com escore do HAQ < 1, 80,9% (n=21) com escore de 1 a 2 e 100% (n=6) com escore > 2, p= 0,006.

A PCR estava aumentada em 18,2% dos pacientes (n=2) com escore < 1, 38% dos pacientes (n=8) com escore de 1 a 2 e 50% dos pacientes (n=3) com escore > 2, p=0,005.

A tabela 6 apresenta a correlação entre os escores do HAQ com a VHS, PCR e DAS 28.

**Tabela 6. Correlação do HAQ com a VHS, PCR e o DAS 28 no grupo reumatóide.**

VARIÁVEL	Pacientes (n=38)			r - p
	HAQ			
	< 1 (n=11)	1 – 2 (n=21)	> 2 (n=6)	
VHS aumentada	8 (72,7%)	17 (80,95%)	6 (100%)	0,439; 0,006
PCR aumentada	2 (18,2%)	8 (38%)	3 (50%)	0,445; 0,005
DAS28				
< 2,6	4 (36,4%)	4 (19%)	1 (16,7%)	
≥ 2,6 < 3,2	3 (27,3%)	3 (14,3%)	0	
≥ 3,2 < 5,1	4 (36,4%)	11 (52,4%)	4 (66,7%)	0,478; 0,002
≥ 5,1	0	3 (14,3%)	1 (16,6%)	

(Spearman)

A correlação do HAQ com a idade, o tempo de doença e o índice de Sharp não apresenta significância estatística.

No grupo reumatóide, os indivíduos com escore do DAS28 < 2,6 (n= 8), 12,5% apresentaram aumento da VHS. Todos os pacientes (n= 30), que apresentaram DAS 28 com escore maior que 2,6 tinham VHS aumentada,  $p < 0,001$ .

Em relação à PCR, dos pacientes com escore do DAS  $\leq 2,6$  (n= 8), 12,5% apresentaram PCR aumentada, com escore de 2,6 e menos que 5,1 (n= 25), 32% e com escore  $\geq 5,1$  (n= 5), 80%,  $p = 0,005$ . A correlação do DAS28 com a VHS e PCR, do grupo reumatóide, está apresentada na tabela 7.

**Tabela 7. Correlação do DAS28 com a VHS e PCR no grupo reumatóide.**

VARIÁVEL	Pacientes (n=38) DAS28				r - p
	≤ 2,6 (n=8)	≥ 2,6 <3,2 (n=6)	≥3,2 < 5,1 (n=19)	≥ 5,1 (n=5)	
VHS aumentada	1 (12,5%)	5 (83,3%)	18 (94,7%)	5 (100%)	0,846; < 0,001
PCR aumentada	1 (12,5%)	1 (16,7%)	7 (36,8%)	4 (80%)	0,451; 0,005

(Spearman)

O FR foi positivo em 57,1% dos pacientes do grupo reumatóide com idade menor que 44 anos (n=7), em 44,4% daqueles entre 44 e 56 anos (n=18) e em 84,6% com idade maior que 56 anos (n=13), p=ns.

Em relação ao tempo de doença, o FR estava positivo em 50% dos pacientes com evolução de doença ≤ 24 meses (n= 12), em 61,5% com evolução entre 25 a 60 meses(n=13) e 69,2% daqueles com doença a mais de 60 meses (n=13), p=ns.

Em relação ao HAQ, 72,7% dos pacientes com escore < 1 (n= 11), tinham FR positivo, 61,9% com escore de 1 a 2 (n= 21) e 33,3% dos que apresentavam escore > 2 (n= 6), p=ns.

No grupo reumatóide, 60% dos pacientes com classe funcional I (n= 5), 60% com classe funcional II (n=15), 50% na classe funcional III (n= 14) e 100% na classe IV(n= 4) apresentavam FR positivo, p=ns.

Em relação ao DAS 28, o FR positivo estava presente em 75% dos pacientes com escore ≤ 2,6 (n= 8), em 16,7% com escore entre ≥ 2,6 < 3,2 (n= 6), em 63,2% com escore ≥ 3,2 < 5,1 (n= 19) e 40% com escore ≥ 5,1 (n= 5). p= ns.

Na correlação do FR com o índice de SHARP, 50% dos pacientes com escore ≤ 3 (n=1), 25% com escore de 4 a 21 (n= 3) e 79,2% com escore ≥ 22 (n= 19) tinham FR positivo, p= 0,001.

As correlações do FR com idade, tempo de doença, HAQ, classe funcional, DAS 28 e índice de SHARP estão demonstradas na tabela 8.

Na análise do anti-CCP, 57,1% dos pacientes com idade < 44 anos (n=7), 55,6% com idade de 44 a 56 anos (n=18), e 76,9% com mais de 56 anos (n=13) apresentavam anti-CCP positivo, p=ns.

Em relação ao tempo de doença, o anti-CCP foi positivo em 41,7% dos pacientes com diagnóstico ≤ 24 meses(n=12), de 25 a 60 meses(n=13), 69,2% e maior que 60 meses (n=13), 76,9%.



---

Em relação ao HAQ, o anti-CCP foi positivo em 54,5% dos pacientes com escore <1 (n= 11), 71,4% com escore de 1 a 2 (n= 21) e 50% com escore > 2 (n= 6), p=ns.

Na distribuição dos pacientes por classe funcional, o anti-CCP foi positivo em 40% dos pacientes na classe I (n= 5), em 53,3% na classe II (n= 15), em 71,4% na classe III (n= 14) e em 100% na classe IV (n= 4), p=ns.

Em relação ao DAS 28, o anti-CCP foi positivo em 62,5% dos pacientes com escore  $\leq 2,6$  (n= 8), em 33,3% com escore  $\geq 2,6 < 3,2$  (n= 6), 68,4% com escore  $\geq 3,2 < 5,1$  (n= 19) e 80% com escore  $\geq 5,1$  (n= 5), p=ns.

A correlação entre o anti-CCP e o índice de SHARP foi estatisticamente significativa, o anti-CCP foi positivo em 50% dos pacientes com escore de SHARP de 4 a 21 (n=12) e em 75% com escore  $\geq 22$  (n=24), p=0,01.

**Tabela 8. Correlação do FR e anti-CCP com a idade e os parâmetros clínicos de atividade e gravidade da AR.**

VARIÁVEL	FR +	r-p	Anti-CCP +	r-p
<b>Idade (anos)</b>				
< 44 (n=7)	4 (57,1%)		4 (57,1%)	
44 – 56 (n=18)	8 (44,4%)	ns	10 (55,6%)	ns
> 56 (n=13)	11 (84,6%)		10 (76,9%)	
<b>TD (meses)</b>				
< 24 (n=12)	6(50%)		5 (41,7%)	
25 a 60 (n=13)	8(61,5%)	ns	9 (69,2%)	ns
> 60 (n=13)	9(69,2%)		10 (76,9%)	
<b>HAQ</b>				
< 1 (n=11)	8 (72,7%)		6 (54,5%)	ns
1 a 2 (n=21)	13 (61,9%)	ns	15 (71,4%)	
> 2 (n=6)	2 (33,3%)		3 (50%)	
<b>Classe Funcional</b>				
I (n=5)	3 (60%)		2 (40%)	
II (n=15)	9 (60%)		8 (53,3%)	ns
III (n=14)	7 (50%)	ns	10 (71,4%)	
IV (n=4)	4 (100%)		4 (100%)	
<b>DAS28</b>				
< 2,6 (n= 8)	6 (75%)		5 (62,5%)	
≥ 2,6 < 3,2 (n=6)	1 (16,7)	ns	2 (33,3%)	ns
≥ 3,2 < 5,1 (n=19)	12 (63,2%)		13 (68,4%)	
≥ 5,1 (n= 5)	2 (40%)		4 (80%)	
<b>Índice de Sharp (Total: P &amp; E)</b>				
≤ 3 (n=2)	1 (50%)	0,529; 0,001	0	0,415;0,01
4 a 21 (n=12)	3 (25%)		6 ( 50%)	
≥ 22 (n=24)	19 (79,2%)		18 (75%)	

**P & E: pinçamento e erosão.  
(Spearman)**

No grupo reumatóide, a correlação entre o FR e o anti-CCP foi estatisticamente significativa, ( $r= 0,637$ ;  $p < 0,001$ ).

Dos pacientes com Vwf positivo ( $n=23$ ), 73,9% apresentaram FR positivo e 26,1% FR negativo. Daqueles com vWF negativo ( $n=15$ ), 40% eram FR positivo e 60% FR negativo,  $p < 0,001$ .

Não houve correlação estatisticamente significativa entre o FR e ET-1 e VEGF,  $p=ns$ .

Na correlação do ICAM-1 com o FR, dos pacientes com ICAM-1 positivo ( $n=16$ ), 81,3% eram FR positivo e 18,7% FR negativo. Dos pacientes com ICAM-1 negativo ( $n=22$ ), 45,5% eram FR positivo e 54,5% FR negativo,  $p= 0,001$ .

Dos pacientes com vWF positivo ( $n=23$ ), 82,6% tinham anti-CCP positivo e 17,4% tinham anti-CCP negativo. Daqueles com vWF negativo ( $n=15$ ), 33,3% tinham anti-CCP positivo e 66,7% anti-CCP negativo,  $p= 0,008$ .

O anti-CCP não apresentou significância estatística na correlação com ET-1, ICAM-1 e VEGF,  $p=ns$ .

A correlação dos autoanticorpos, FR e anti-CCP, está demonstrada na tabela 9.

**Tabela 9. Correlação dos auto-anticorpos FR e anti-CCP com os marcadores endoteliais no grupo reumatóide.**

PACIENTES( $n=38$ )				
VARIÁVEL	FR +	r-p	Anti-CCP +	r-p
vWF +	7 (73,9%)	0,649; < 0,001	19 (82,6%)	0,422; 0,008
ET-1 +	1 (50%)	ns	1 (50%)	ns
ICAM-1 +	13 (81,3%)	0,528; 0,001	12 (75%)	ns
VEGF +	2 (66,7%)	ns	2 (66,7%)	ns

(Spearman)

#### 4.2.1 Correlação dos marcadores endoteliais com os parâmetros de atividade e gravidade da doença

O vWF foi positivo em 42,9% na faixa etária < 44 anos (n=7), em 55,6% de 44 a 56 anos (n=18) e em 76,9% na faixa etária maior que 56 anos (n=13), p=ns.

Em relação ao tempo de doença, 41,7% dos pacientes com vWF positivo, estavam no grupo  $\leq 24$  meses (n=12), 46,2% com 25 a 60 meses (n=13), e 92,3% > 60 meses (n=13), p= 0,03.

Em relação ao HAQ, dos pacientes com vWF positivos, 54,5% obtiveram escore < 1 (n= 11), 71,4% 1 a 2 (n= 21), e 50% escore > 2 (n= 6), p= 0.029.

Dos pacientes com classe funcional I (n= 5), 20% tinham vWF positivo, 40% com classe II (n= 15), 71,4% com classe III (n= 14), e 100% com classe IV (n= 4), p=ns.

Em relação ao DAS28, 37,5% com escore < 2,6 (n= 8), 61,1% com escore  $\geq 2,6 < 3,2$  (n= 6), 68,4% com escore  $\geq 3,2 < 5$  (n= 19) e 80% com escore  $\geq 5,1$  tinham vWF positivo, p= 0,021.

Na correlação com o índice de SHARP, dos pacientes que apresentavam escore  $\leq 3$  (n= 2), nenhum tinha vWF positivo, 41,7% daqueles com escore de 4 a 21 (n=12) e 75% com escore  $\geq 22$  (n= 24), tinham vWF positivo, p= > 0.001.

Ao analisarmos o ICAM-1 com a idade do paciente, 28,6% daqueles com idade < 44 anos (n=7), na faixa etária de 44 a 56 anos (n=18), 27,8% e 69,2% com idade maior que 56 anos (n=13) tinham ICAM-1 positivo, p=ns.

Em relação ao tempo de doença  $\leq 24$  meses (n=12), 41,7% dos pacientes tinham ICAM-1 positivo, com 25 a 60 meses (n=13), 38,5% e maior que 60 meses (n=13), 46,2%. Houve uma distribuição semelhante dos pacientes com ICAM-1 positivo em relação ao tempo de doença, p= ns.

Em relação ao HAQ, o ICAM-1 foi positivo em 36,4% dos pacientes com escore < 1 (n=11), em 52,4% com escore de 1 a 2 e em 16,7% daqueles com escore > 2, p=ns.

Dos pacientes com classe funcional I (n=5), 20% tinha ICAM-1 positivo, 40% na classe II (n=15), 35,7% na classe III (n=14), e 50% na classe IV (n=4), p= ns.

Houve correlação estatisticamente significativa entre o ICAM-1 e o DAS28, na qual 35,7% dos pacientes com escore  $\leq 3,2$  (n=14), 27,8% com escore entre 3,2 e 5,2 e 100% daqueles com escore  $\geq 5,2$  apresentaram ICAM-1 positivo, p= 0,038.

O VEGF foi positivo em somente 3 pacientes, portanto, não apresentou correlação estatisticamente significativa com idade e com os parâmetros clínicos de atividade e gravidade da AR estudados.

A Tabela 10 apresenta a correlação dos marcadores de endotélio com a idade e os parâmetros de atividade e gravidade da AR no grupo reumatóide.

**Tabela 10. Correlação dos marcadores endoteliais com a idade e os parâmetros clínicos de atividade e gravidade da AR no grupo de reumatóides.**

VARIÁVEL	vWF	ICAM-1	ET-1	VEGF
<b>Idade (anos)</b>				
< 44 (n=7)	3 (42,9%)	3 (42,9%)	1 (14,3%)	2 (28,6%)
44 – 56 (n=18)	10 (55,6%)	10 (55,6%)	0	0
> 56 (n=13)	10 (76,9%)	10 (76,9%)	0	1 (7,69%)
<b>p</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>TD (meses)</b>				
< 24 (n=12)	5 (41,7%)	5 (41,7%)	1 (8,3%)	2 (16,7%)
25 a 60 (n=13)	6 (46,2%)	5 (38,5%)	0	0
> 60 (n=13)	12(92,3%)	6 (46,2%)	0	1 (7,69%)
<b>r - p</b>	<b>0,340; 0,03</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>HAQ</b>				
< 1 (n= 11)	6 (54,5%)	4 (36,4%%)	0	1 (9,1%)
1 a 2 (n= 21)	15 (71,4%)	11 (52,4%)	1 (4,8%)	1 (4,76%)
> 2 (n= 6)	3 (50%)	1 (16,7%)	0	1 (16,7%)
<b>r - p</b>	<b>0,355; 0,029</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>Classe Funcional</b>				
I (n= 5)	1 (20%)	1 (20%)	0	1 (20%)
II (n= 15)	6 (40%)	6 (40%)	1(6,7%)	1 (6,7%)
III (n= 14)	10 (71,4%)	5 (35,7%)	0	0
IV (n= 4)	4 (100%)	2 (50%)	0	1 (25%)
<b>p</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>DAS28</b>				
< 2,6 (n= 8)	4 (50%)	3 (37,5%)	0	1 (12,5%)
≥ 2,6 < 3,2 (n= 6)	2 (33,3%)	2 (33,3%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)
≥ 3,2 < 5,1(n= 19)	12 (63,2%)	6 (31,6%)	0	0
≥ 5,1(n= 5)	5 (100%)	5 (100%)	0	1 (20%)
<b>r - p</b>	<b>0,374; 0,021</b>	<b>0,038</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>Índice de Sharp (Total: P &amp; E)*</b>				
≤ 3 (n= 2)	0	0	0	1 (50%)
4 a 21 (n= 12)	5 (41,7%)	4 (33,3%)	1 (8,3%)	0
≥ 22 (n= 24)	18 (75%)	12(50%)	0	1 (4,1%)
<b>r - p</b>	<b>0,564; &lt; 0,001</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>

P: pinçamento; E: Erosão.  
(Spearman)

#### 4.2.2 Correlação entre os marcadores endoteliais

##### O vWF

Na correlação do vWF com ICAM-1, 75% dos pacientes com ICAM-1 positivo (n=12), 50% daqueles com ICAM-1 negativo (n=11) apresentavam vWF positivo,  $p=0,025$ .

Não houve correlação estatisticamente significativa do vWF com ET-1 e VEGF. Estas correlações podem ser observadas na tabela 12.

**Tabela 11. Distribuição da correlação do vWF com outros marcadores na amostra do grupo reumatóide.**

Mediador vWF	ET-1 n=38		ICAM-1 n=38		VEGF n=38	
	+	-	+	-	+	-
	(n= 1)	(n= 37)	(n= 16)	(n= 22)	(n= 3)	(n= 35)
vWF +	0 (0,0%)	24 (64,9%)	12 (75%)	11 (50,0%)	2 (66,7%)	21 (60,0%)
vWF -	2 (100%)	13 (36,1%)	4 (25%)	11 (50,0%)	1 (33,3%)	14 (40%)
TOTAL	1 (100%)	37 (100%)	16 (100%)	22 (100%)	3 (100%)	35 (100%)
r - p	ns		0,364; 0,025		ns	

(Spearman)

O ICAM-1 não apresentou correlação estatística com ET-1 e VEGF.

A análise estatística das correlações das variáveis FR, anti-CCP, ICAM-1, vWF, VHS e PCR no grupo controle apresentou significância somente na correlação entre o ICAM e a PCR,  $r= 0,480$ ;  $p=0.018$ .

**DISCUSSÃO**

---

## 5. DISCUSSÃO

A artrite reumatóide é uma doença inflamatória crônica, na qual o endotélio exerce um papel importante na sua patogênese. A ativação endotelial causa estímulos na produção de diversas substâncias pró-inflamatórias e outras, biologicamente ativas, que estão presentes na patogênese da AR. Enquanto o endotélio saudável evita a adesão de células mononucleares, o mecanismo de defesa, sob a influência da inflamação, expressa moléculas de adesão que promovem a aderência dos monócitos (Hürlimann et al., 2004). Uma das moléculas que exerce papel importante na adesão de células, como o linfócito T circulante, é a ICAM-1. Portanto, o endotélio também exerce papel importante na ativação de células T CD4 e células B e estimula a produção de autoanticorpos e formação de imunocomplexos.

Diversos fatores químicos e físicos podem causar injúria tecidual e promover disfunção do endotélio. O tabagismo é um exemplo de um desses fatores, visto que a nicotina exerce influência na síntese e expressão da ET-1 (Kosicka et al., 2006). Por sua vez, o VEGF tem a sua síntese estimulada pelo endotélio ativado, favorecendo a permeabilidade vascular e, principalmente, a angiogênese.

Neste estudo, foram avaliados os marcadores de ativação endotelial ICAM-1, VEGF, vWF e ET-1 e os auto-anticorpos, FR e anti-CCP, em 38 pacientes com AR e num grupo controle de 24 indivíduos não reumatóides. O objetivo foi estabelecer uma correlação com a atividade clínica, laboratorial e alterações radiológicas da doença e avaliar se a presença desses marcadores e dos autoanticorpos estaria relacionada com maior gravidade da doença.

Foram excluídos do estudo indivíduos com diabetes mellitus, hipertensão, insuficiência cardíaca e insuficiência renal. Alguns trabalhos mostram que poderá haver aumento da ET-1 nestas patologias (Haq et al., 1999).

Todos os pacientes foram conduzidos e examinados pelo investigador.

As características demográficas estão de acordo com a literatura com predomínio do sexo feminino e faixa etária entre a quinta e a sexta década de vida. A amostra apresentou três tipos raciais: parda, branca e negra, com discreto predomínio da raça parda. Isto reflete as características raciais da região onde a pesquisa foi realizada.

Somente um indivíduo possuía o hábito do tabagismo no grupo reumatóide e nenhum indivíduo do grupo controle. Pesquisas têm relacionado o tabagismo,



principalmente em populações com HLA com “epitopo compartilhado”, como fator predisponente para o desenvolvimento da AR, para produção de anti-CCP e como estímulo para aumento do TNF- $\alpha$  (Van Der Helm-van Mil et al., 2007); (Klareskog et al., 2007); (Glossop et al., 2006).

Embora o tempo de evolução da doença seja prolongado (média de  $67,9 \pm 66,6$  meses), o exame físico desses pacientes revelou sinais de atividade clínica associados a sinais de cronicidade da doença, como presença de deformidades. Estes achados foram confirmados pelo aumento das provas de fase aguda de inflamação, pelo resultado do DAS28, pela predominância das classes funcionais II e III e pelo HAQ médio de  $1,33 \pm 0,66$ , indicando doença ativa. Estes dados, juntamente com os achados do Sharp mostram 73,6% dos pacientes com erosões e média do índice total pinçamento mais erosões igual a 31, evidenciam a cronicidade e a gravidade da AR nestes pacientes.

O fator reumatóide não se associou com sexo nem se correlacionou com idade e tempo de evolução da doença, confirmando os achados na literatura (Silva et al., 2007). Da mesma forma, o FR não se associou aos parâmetros de atividade da doença. Houve uma significância estatística do FR com o índice de Sharp, com predominância nos paciente com escore total maior que 21, o que está em concordância com outros estudos (Santos et al., 1997); (Silva et al., 2007). Apesar de não haver uma associação da classe funcional com o FR, o mesmo foi positivo em 100% dos pacientes que se encontravam na classe funcional IV. Este achado e a correlação com o Sharp atestam a importância da presença desse auto-anticorpo na patogênese da artrite reumatóide como um agente importante para a gravidade da doença e confirmando-o como um marcador prognóstico para AR (Santos et al., 1997).

Neste estudo, os dois auto-anticorpos estudados apresentaram um perfil semelhante quanto à correlação estatística. O FR tem uma sensibilidade de até 90% dos pacientes com AR e uma especificidade em torno de 59%, enquanto o anti-CCP tem uma especificidade de até 90%, principalmente, no início da doença e uma sensibilidade de 50% (Goldbach et al., 2000). Estudos mostram que a probabilidade diagnóstica aumenta, sensivelmente, em pacientes com FR IGM positivo associado ao anti-CCP positivo (Kroot et al., 2000). O FR IgM e o anti-CCP apresentam uma correlação direta, ou seja, quando um aumenta, o outro também aumenta, na maioria dos pacientes com AR, o que confirma a heterogeneidade da patogenia dessa doença (SchelleeKens et al., 2000); (Goldbach et al., 2000). Neste estudo, os auto-anticorpos

não se associaram com a atividade da doença, não apresentou correlação significativa com o tempo de doença nem com a classe funcional ou o HAQ, o que está de acordo com o achado em outros trabalhos (Silva et al., 2007) (Santos et al., 1997). Encontramos uma correlação significativa entre os auto-anticorpos e o índice de Sharp, mostrando que estes auto-anticorpos são importantes na evolução da doença para a injúria do tecido ósseo e, portanto, predispondo um pior prognóstico.

A correlação do FR e do anti-CCP com os marcadores de disfunção endotelial apresentou semelhanças. No entanto, o anti-CCP não se correlacionou com o ICAM-1. Não encontramos, na literatura, outro estudo que faça uma correlação estatística destes auto-anticorpos com os marcadores endoteliais estudados.

Na nossa casuística, o vWF mostrou-se o mais expressivo dentre os marcadores estudados, com uma correlação significativa com o Sharp e com os parâmetros clínicos, exceto com a classe funcional, sexo e idade. Não encontramos outro estudo que faça a correlação do vWF com parâmetros clínicos, radiográficos e com os auto-anticorpos.

Especificamente na artrite reumatóide, o vWF, junto com a ICAM-1, está presente em resposta à inflamação ativa e persistente. As pesquisas têm dado enfoque à relação da disfunção endotelial na AR com o desenvolvimento de doença arteriosclerótica, independentemente dos fatores de riscos clássicos envolvidos. Muita similaridade tem surgido entre o paradigma da inflamação na patogênese da arteriosclerose e o mecanismo bem estabelecido da AR. Na AR a inflamação está presente na parede dos vasos. A disfunção endotelial com a inflamação persistente parece ter um papel importante na iniciação e propagação da arteriosclerose envolvendo moléculas de adesão, citocinas, enzimas proteolíticas com conseqüente destruição e desestabilização de placas arterioscleróticas, estimulando fatores de coagulação como o vWF (Wallberg-Jonsson et al., 2002); (Hürlimann et al., 2004).

Neste estudo não podemos inferir que o percentual da amostra com vWF positivo tenha ou venha a desenvolver doença arteriosclerótica, visto que não fizemos nenhuma investigação específica para tal, mas podemos levantar a hipótese que estes pacientes possuem risco, pois o maior número de vWF positivo ocorreu nos pacientes com maior tempo de doença, sendo esta correlação estatisticamente significativa. Embora a idade não tenha se correlacionado com o vWF, a literatura mostra que o paciente com AR com idade de evolução de doença de cinco a dez anos, tem de duas a cinco vezes mais risco de desenvolver doença arteriosclerótica mais precocemente. A correlação do

vWF com os parâmetros clínicos de atividade da doença através da correlação significativa com o DAS28, provas inflamatórias, o HAQ e forte correlação com o Sharp está, como já referido, implicada na inflamação ativa e persistente, como demonstrado em vários estudos (McEntegart et al., 2001); (Wallberg, 2002); (Hürlimann et al., 2004) o vWF, pode ser utilizado para estabelecer o risco para o desenvolvimento da doença arteriosclerótica no paciente com AR, visto que muitos pacientes não apresentam nos seus antecedentes, fatores de riscos clássicos nem sintomatologia para doença arteriosclerótica. Poderíamos inferir então, a hipótese, de que, o tratamento específico para AR, diminui a inflamação e a disfunção do endotélio, com queda do vWF e diminuição dos fatores trombogênicos.

A ICAM, proteína que é expressa pela célula endotelial medeia a interação de células com a matriz extracelular. Essa molécula desempenha um papel importante no recrutamento e retenção de células pró-inflamatórias e a sua expressão é induzida por citocinas e pela disfunção do endotélio. A ICAM-1 está envolvida no processo inicial da AR e se mantém elevada na progressão da sinovite reumatóide (Klimiuk et al., 2002).

Neste estudo, a ICAM-1 apresentou uma correlação significativa com os principais parâmetros de atividade: VHS, PCR e DAS-28, confirmando os estudos da literatura (Klimiuk, 2002); (Dolezalová et al., 2003); (Klimiuk, 2004); (Ugur et al., 2004), o que atesta a função da ICAM-1 como uma molécula envolvida no recrutamento, retenção e migração de células pró-inflamatórias pelo endotélio, portanto, seu aumento reflete doença ativa. Não houve correlação da ICAM-1 com o índice de Sharp, provavelmente, porque apesar da ICAM-1 estar relacionada com atividade da doença, esse marcador parece ter uma ação de “start” do processo inflamatório na sua função de recrutamento e favorecimento da migração de células para o sítio inflamatório, que é perpetuado por estímulos e retroalimentado, continuamente, por citocinas. Não houve correlação com o tempo de doença, ou seja, a ICAM-1 se mantém numa linearidade durante todo o tempo de doença, podendo elevar-se ou diminuir, dependendo dos fatores que alterem o comportamento do processo inflamatório. Na patogenia da AR, vários eventos ocorrem sequencialmente e outros simultaneamente. A expressão da molécula de adesão influenciando indiretamente na produção de autoanticorpos e formação de imunocomplexos pode explicar a correlação significativa da ICAM com o FR.. Estudos mostram o aumento da ICAM-1 e do vWF na patogênese da arteriosclerose em consequência da atividade inflamatória persistente (Hürlimann et al., 2004). A indução da expressão do vWF é uma consequência da expressão das moléculas de adesão,

dentre elas a ICAM-1. Em cadeia, segue a ação de citocinas pró-inflamatórias, PCR, enzimas proteolíticas com conseqüente estimulação dos fatores de coagulação e aumento do vWF.

Na casuística estudada, ao contrário do encontrado em outros estudos (Haq et al., 1999); (Bagnato A et al., 2003), não houve significância estatística nos resultados da ET-1, apenas um paciente e um controle com exame positivo. A ET-1 é um peptídeo que age como um potente vasoconstrictor. Estudos têm mostrado a relação do tabagismo com disfunção endotelial e aumento da expressão da ET-1 (Poreba et al., 2004); (Kosicka et al., 2006). O tabagismo tem sido colocado como um fator desencadeante do desenvolvimento da AR e também do Lupus eritematoso sistêmico (Klareskog et al., 2007; van der Helm-vanMll et al., 2007). A nicotina é um fator causador de disfunção endotelial e estimulante da expressão da ET-1. Na nossa casuística, apenas um paciente é tabagista e este não apresentou alteração da ET1, portanto, não houve significância nas associações e correlações. Fica a indagação: Será que se a nossa casuística tivesse um número significativo de indivíduos tabagistas, teríamos uma expressão significativa de ET-1? Se a resposta for positiva, enfatiza a afirmação de que, a ET-1 não é um bom marcador de disfunção endotelial para a AR.

O VEGF foi positivo em três indivíduos do grupo reumatóide e em três participantes do grupo controle, não havendo diferença estatística entre os dois grupos. Pela pequena expressão desse marcador endotelial não houve correlação ou associação com as outras variáveis. Este resultado está em divergência com a literatura (Taichman et al., 1997; Maeno, 1999; Ballara, 2001; Taylor, 2002; Fuwape et al., 2002). Uma hipótese levantada para justificar o pequeno número de pacientes com VEGF positivo neste estudo seria pela presença, nessa amostra, de um grande número de pacientes com tempo de doença elevada (tempo médio de doença acima de 60 meses). Fuwape demonstrou que os pacientes com AR, na fase inicial da doença, apresentavam concentração aumentada de VEGF no soro (Fuwape et al., 2002).

Nosso estudo com uma amostra de 38 indivíduos conseguiu reforçar resultados de outros estudos em relação à participação dos auto-anticorpos na AR, entretanto, foi contrário à outros estudos em relação ao vWF. Longe de elucidar o papel da ativação endotelial na AR, o que poderia favorecer o melhor entendimento da vários processos patogênicos específicos e intercorrentes, como a lesão vascular e dislipidemias, este estudo abre várias perspectivas investigacionais, porém, outros adicionais serão

necessários. Do ponto de vista prático para o reumatologista, ainda não podemos aconselhá-lo no sentido de avaliar na rotina ambulatorial em seus pacientes, os marcadores de ativação endotelial. No que diz respeito aos auto anticorpos, a pesquisa de anticorpos antipeptídeos citrulinados abre, sem dúvida alguma, um caminho importante, não somente para o diagnóstico mais precoce da AR, mas também, para a melhor compreensão da etiopatogenia desta intrigada doença. Esperamos que outros estudos com uma casuística maior e com o implemento de outras variáveis, possa dar continuidade ao estudo da participação dos marcadores de disfunção e ativação endotelial no paciente com artrite reumatóide.

**CONCLUSÃO**

---

## 6. CONCLUSÃO

1. No presente estudo, a expressão dos auto-anticorpos e marcadores endoteliais não teve influencia de parâmetros demográficos como sexo e idade.
2. O tempo de evolução da doença influenciou na expressão apenas do vWF.
3. O FR e o anti-CCP tem importância significativa no prognóstico da AR.
4. No presente estudo o vWF mostrou ser um bom marcador de atividade e prognóstico na AR.
5. No presente estudo a ET-1 não mostrou ser um bom marcador endotelial para AR.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Abers JM, Paimela L, Kurki P, Eberhardt KB, Emery P, et al: Treatment, strategy, disease activity and outcome in four cohorts of patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2001; 60(5): 453-458.
- 2) ACR Clinical Guidelines Committee: Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1996; 39(5):713-722.
- 3) Afuwape AO, Kiriakidis S, Paleolog EM: The role of the angiogenic molecule VEGF in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Histol Histopathol*, 2002; 17:961-972.
- 4) Alamanos Y, Drosos AA: Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2005 Mar; 4(3): 130-136.
- 5) Alarcon GS: Epidemiology of Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1995; 21(3):589-604.
- 6) Araújo FAGR, Gabriel JÁ, Assad RL, Quaresma M, Perez S, Atra E: Fator Von Willwbrand e de doenças reumáticas. Marcador de lesão vascular ou reagente de fase aguda? *Rev Bras. de Reumatol*, 1995; 35(5):p. 247-252.
- 7) Arnet FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for classification of the rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
- 8) Ates A, Kinikli G, Turgay M, Duman M: Serum-soluble selectin levels in patients with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Scand J Immunol*, 2004 mar; 59(3):315-320.
- 9) Bagnato A, Spinella F: Emerging role of endothelin-1 in tumor angiogenesis. *Trends Endocrinol Metab*, 2003;14(1):44-50.
- 10) Ballara S, Taylor PC, Reusch P, Marmé D, Feldmann M, Maini RN, Paleolog EM: Raised serum vascular endothelial growth factor levels are associated with destructive change in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum*, 2001; 44(9): 2055-64.
- 11) Bennet SR, Falta MT, Bill J, Kotzin BL. Antigen-specific T Cells in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*, 2003;5(4); 255-63.

- 12) Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R: Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem*, 2001; 47(6):1089-93.
- 13) Bodolay E, Koch AE, Kim J, Szegedi G, Szekanecz Z: Angiogenesis and chemokines in rheumatoid arthritis and other systemic inflammatory rheumatic diseases *J. Cell Mol Med*, 2002; 6(3):357-376.
- 14) Boerbooms AM, Westgeest AA, Reekers P, Van de Patte LB: Immunogenetic heterogeneity or seronegative rheumatoid arthritis and the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis*, 1990; 49(1):15-7.
- 15) Carvalho MAP, Xavier AJD: Artrite Reumatóide. *Reumatologia Diagnóstico e Tratamento*. 2ª edição; 2001. (20): 371-389.
- 16) Carvalho MHC, Fortes ZB, Passaglia RCAT, Nigro D. Funções Normais do Endotélio - Uma visão geral. *Endotélio em doenças cardiovasculares* 2005; 2: 17-32.
- 17) Clavel G, Bessis N, Boissier MC: Recent data on the role for angiogenesis in reumathoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 2003 sep; 70(5):321-326.
- 18) Cotron RS. Endothelial Cells. In: Keelley, Harris, Ruddy, Sledger, editors. *Textbook of Reumathology*. 3ª ed. Philadelphia; 1989. p. 389-415.
- 19) Cuchacivich M, Couret M, Peray P, Gatica H, Sany J. Precision of the Larsen and the sharp methods of assessing radiologic change in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1992; 35:p.736-39.
- 20) Cush JJ, Lipsky PE: The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis; the role of cytokines in chronic inflammation. *Clinical aspects of autoimmunity* 1987; 1:2-13.
- 21) DAS – Score. NL [Homepage on the Internet]. Dept. of Rheumatology: University Medical Center Nijmegen – The Netherlands. Availble from: <http://www.das-score.nl/>.
- 22) Deighton C, Criswell LA: Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*, 2006; 8 (5):394-400.

- 23) Dhanabal M, Ramchandran R, Waterman MJ, Lu H, Knebelmann B, Segal M, Sukhatme VP: Endostatin induces endothelial cell apoptosis. *J Biol Chem*, 1999; 274:11721-11726.
- 24) Dohn UM, Ejbjerg BJ, Court-Payen M, Hasselquist M, Narvestad E, Szkudlarek M, Moller JM, Thomsen HS, Ostergaard M. Are bone erosions detected by magnetic resonance imaging and ultrasonography true erosions? A comparacion with computed tomography in rheumatoid arthritis metacarpophalangeal joints. *Arthritis Res Ther*, 2006;8(4):R1.
- 25) Dolezalová P, Telekesová P, Nenscová D, Belosová J, Kvasnicka J, Hoza J: Laboratory indicators of endothelial involvement in rheumatic diseases associated with vasculitis in children. *Cas Lek Cesk* 2003; 142(10):615-9.
- 26) Donadi EA: Aspectos moleculares do complexo principal de histocompatibilidade: como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças reumáticas. *Rev. Reumatol. Bras.* 2001; 41 (4): 225-236.
- 27) Etherington PJ, Winlove P, Taylor P, Paleolog E, Miotla JM: VEGF release is associated with reduced oxygen tensions in experimental inflammatory arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 2002; 20(6):799-805.
- 28) Felson DT, Anderson JJ, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C, Katz LM, Lightfoot R; Paulus H, Strand V, Tugwell P, Weinblatt M, Williams HJ, Wolfe F, Kieszak S: American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1995; 38:727-35.
- 29) Ferraz MB, Oliveira LM, Araújo PM, Atra E, Tuqwell P: Crosscultural reliability of the physical ability dimensiono f the hea assessment questionnaire. *J Rheumatol*, 1990 Jun; 17(6): 813-7.
- 30) Freedman A, Steinberg VL: Chloroquinin rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1960; 19: 243 – 250.
- 31) Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patients outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980;23:137-45.
- 32) Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, Athanassou N, Papazoglou D, Gatter KC et al. Up regulated hypoxia inducible factor-1alpha and 2 alpha pathway in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther*, 2003; 5(4): 193-201.

- 33) Glossop JR, Dawes PT, Matthey DL: Association between cigarette smoking and release of of tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors by peripheral blood mononuclear cells in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (osford)*, 2006;45(10):p.1223-1229.
- 34) Goldbach-Mansky R, Lee J; McCoy A, Hoxworth J, Yarboro C, Smolen JS, Steiner G; Rosen A et al.: Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res*, 2000;2(3):p. 236-243.
- 35) Gough AK, Lilley J: Generalized bone loss in patients with early rheumatoid arthritis occurs early and relates to disease activity. *Lancet* 1994 Jul 2, 344(8914): 23-7.
- 36) Grant EP, Picarella D, Burwell T, Delaney T, Croci A, Avitahl N et al: Essential role for the C5a receptor in regulating the effector phase of synovial infiltration and joint destruction in experimental arthritis. *J Exp Med*, 2002; 196(11):1461-71.
- 37) Haq A, El-Ramadi K, Al-Dalaan A and Al-Sedairy S.T. Serum and synovial fluid concentrations of endothelin-1 in patients with rheumatoid arthritis. *J Med* 1999; 30(1-2):51-60.
- 38) Hollander AP, Corke KP, Freemont AJ, Lewis CE: Expression of hypoxia inducible factor 1 alpha by macrophages in the rheumatoid synovium: implications for targeting of therapeutic genes to the inflamed joint. *Arthritis Rheumatol*, 2001; 44(7): 1540-4.
- 39) Hürlimann D, Enseleit F, Ruschitzka F: Rheumatoid arthritis, inflammation, and atherosclerosis. *Herz*, 2004;29(8):p.760-768.
- 40) Ikeda M, Hosoda Y, Hirose S, Okada Y, Ykeda E: Expression of vascular endothelial growth factor isoforms and their receptors Flt-1, KDR and neuropilin-1 in synovial tissues of rheumatoid arthritis. *J. Pathol*, 2000; 191(4): 426-33.
- 41) John T. Sharp, Martin D, Lisky, Collins C Lois, Moreland J: *Arthritis and Rheumatism*, 1971;14:706-719.
- 42) Kasama T, Kobayashi K, Yajima N, Shiosawa F, Yoda Y, Takeuchi HT, Mori Y, Neigishi M, Ide H, Adachi M: Expression of vascular endothelial growth factor by synovial fluid neutrophils in rheumatoid arthritis(AR). *Clin. Exp. Immunol*, 2000; 121(3): 533-8.

- 43) Kaye JJ, Callahan LF, Nance EP Jr, Brooks RH, Pincus T: Bony ankylosis in rheumatoid arthritis. Association with longer duration of disease and greater severity of disease. *Invest Radiol*, 1987b; 22:303-309.
- 44) Kellgren JH: Radiological signs of rheumatoid arthritis. A study of observer differences in the reading of hands films. *Ann Rheum Dis*, 1956; 15: 55-60.
- 45) Khuder SA; Peshimam AZ; Agraharam S. Environmental risk factors for Rheumatoid Arthritis. *Environ Health*, 2002;17(4):307-15.
- 46) Klareskog L, Padyukov L, Alfredsson L: Smoking as a trigger for inflammatory rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol*, 2007;19(1):49-54.
- 47) Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R, Cylwik JP, Cylwik B, Skowronski J, Chwiecko J: Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with variants of rheumatoid synovitis. *Ann Rheum Dis*, 2002;61(9): 804-809.
- 48) Klimiuk PA, Sierakowski S, Fiedorczyk M, Chwiecko J: Serum tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) concentration correlates with soluble adhesion molecules and vascular endothelial growth factor (VEGF) in rheumatoid arthritis. *Przegl Lek*, 2004;61(2):p.86-89.
- 49) Koch AE: The role of angiogenesis in rheumatoid arthritis: recent developments. *Ann Rheum Dis*, 2000; 59(1): 65-71.
- 50) Kosicka T, Kara-Perz H, Perz S: Evaluation of plasma endothelin-1 concentration in tobacco smoking patients with essential hypertension. *Przegl Lek*, 2006;63(10):p.957-959.
- 51) Kotzin BL. The role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology* 2005; 32: 14-18.
- 52) Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2000;43(8):1831-5.
- 53) Larsen A, Dale K, Dale K, Eck M: Radiographic evaluation of arthritis rheumatoid and related conditions by standard reference films. *Acta radiol*, 1977; 18:481-491.

- 54) Laurindo IMM, Pinheiro RCG, Ximenes AC, Bertolo MB, Xavier RM, Giorgi RDN, Ciconelle RM, Radominski SC, Lima FAC, Bastitela LM, Alencar P: Consenso Brasileiro para diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide. *Rev. Bras. De Reumatol*, 2002 nov/dez: 42(6): 355-361.
- 55) Maeno N, Takei S, Imanaka H, Takasaki I, Kitajima I, Matsuo K, Miyata K: Increased circulating vascular endothelial growth factor is correlated with disease activity in polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2000 sep; 27(9): 2284-6.
- 56) Marc C. Hocheberg, Rowland W. Chang, Isaac Dwosh, Stephen Lindsey Theodore Pincus and Frederick Wolfe. The American College of Rheumatology 1991, revised criteria for the classification of Global Functional Status in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheum*, 1992: 35 (5): 498-502.
- 57) Marikovsky M, Ziv V, Nevo N, Herris CC, Mahler O: Cu/Zn superóxido dismutase plays important role in immune response. *J Immunol*, 2003 mar 15; 170(6): 2993-3001.
- 58) Maruotti N, Cantatore FP, Crivellato E, Vacca A, Ribatti D: Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Histol Histopathology*, 2006 21(5):557 a 66.
- 59) Masson-Bessière C, Sebbag M, Dureux JJ, Nogueira L, et al: Rheumatoid pannus, anti-filaggrin autoantibodies are produced by local plasma cells and a higher proportion of IgG than in synovial fluid and serum. *Clin Exp Immunol*, 2000; 119(3):544-52.
- 60) Mcetegart A, Capell HA, Creran D, Rumley A, Woodward M, Lowe GD: Cardiovascular risk factors, including thrombotic variables, in a population with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 2001;40(6):p.640-644.
- 61) McMurray RW: Adhesion molecules in autoimmune disease. *Semin Arthritis Rheum*, 1996; 25(4): 215-233.
- 62) Mona Pache, Hans A Schwarz, Hedwig J Kaiser, Manuel Cloti, Barbara Dubler, Josef Flammer. Elevated plasma endothelin-1 levels and vascular dysregulation in patients with rheumatoid arthritis. *Med SCI Monit*, 2002; 8(9): CR 616-619.
- 63) Nascimento CA, Patriarca G, Heimann JC. Estrutura orgânica do endotélio vascular. *Endotélio doenças cardiovasculares* 2005; 1:1-16.

- 64) Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13(1):9-22.
- 65) Nienhuis RL, Manderna E: A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis, the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23:202-5.
- 66) Paleolog EM: Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*, 2002; 4(3): S81-S90.
- 67) Pardine R. Laboratório nas doenças reumáticas in: Moreira C; Carvalho M A P. *Reumatologia Diagnóstico e Tratamento 2ª ed.* Minas Gerais (MG):Meds; 2001. p. 101-121.
- 68) Park YW, Kang Y, Butterfield J, Detmar M, Gronosy JJ, Weyand CM: Thrombospondin 2 functions as an endogenous regulator of angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol*, 2004; 165: 2087-98.
- 69) Paula KM, Paula B, Viegas, Paula G Silva: apoptose para o bem e para o mal. *Revista de biologia e ciências da terra*; 2002: 2 (2).
- 70) Poreba R, Skoczynska A, Derkacz A, Wojakwska A, Turczyn B: Influence of tobacco smoking on endothelial function in lead-exposed male workers. *Med Pr*, 2004;55(2):p.145-151.
- 71) Roosnek E, Lanzavecchia A: Efficient and selective presentation of antigen-antibody complexes by rheumatoid factor B cells. *J Exp Med* 1991; 173(2):487-9.
- 72) Rose HM; Ragan C, Pearce E, Lipman MO: Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1949; 68: 1-6.
- 73) Santos WS; Fernandes ARC, Silva NP, Agra E, Andrade LEC: Significado clínico do fator perinuclear e anticorpo antiestrato córneo na artrite reumatóide. *Ver Bras Reumatol*, 1997;37(6):p.309-316.
- 74) Schellekens Ga, Visser H, de Jong BAW, van den Hoogen FHJ, Hazes JM, Breedveld FC & van Venrooij WJ: The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*, 2000; 43(8): 155-163.

- 75) Sharp JT, Bluhm GB, Brook A, Brower AC, Corbert M, Decker JL et al: Reproducibility of multiple observer scoring of radiologic abnormalities in the hands and wrists of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 1985b; 28: 16-24.
- 76) Shmerling RH, Delbanco TL: The rheumatoid factor, an analysis of clinical utility. *Am J Med*, 1991; 91(5):528-34.
- 77) Silva AF, Matos NA, Lima, MAS, Lima EF, Correa ICC, Carvalho EM: Associação do Anticorpo Anticitrulina e Gravidade da Artrite Reumatóide. *Rev Bras Reumatol*, 2006;46(3):p.165-173.
- 78) Stastny P: Association of the B-cell alloantigen DRw4 With rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978, 298(16): 869-71.
- 79) SteinBrocker O, Traeger CH, Batterman RC: Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. *JAMA* 1949; 140:659-65.
- 80) Taichman N, Young S, Crucheley A, Taylor P, Paleolog E: Human neutrophils secrete vascular endothelial growth factor. *J Leukoc. Biol*, 1997; 62(3): 397-400.
- 81) Taylor PC: VEGF and imaging of vessels in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*, 2002; 4(3): S99-107.
- 82) Tsoulfa G, Rooky GA, Bahr GM et al: Elevated IgG antibody levels to the mycobacterium 65-kDa heat shock protein are characteristic of patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 1989;30(5):519-527.
- 83) Ugur M, Yildirim K, Kiziltunc A, Karatay S, Senel K: Correlation between soluble intercellular adhesion molecule 1 level and extracellular superoxide dismutase activity in rheumatoid arthritis: a possible association with disease activity. *Scand J Rheumatol*, 2004;33(4):p.239-243.
- 84) Utz PJ, Gensler TJ, Anderson P: Death autoantigen modifications, and tolerance. *Arthritis Res* 2000;2(2):101-14.
- 85) Waaler E: On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep corpuscles. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1940;1:172-188.
- 86) Van der Helm-van Mil AH, Verpport KN, le Cessie S, Huizinga TW, de Vries RR, Toes RE: The HLA-DRb1 shared epitope alleles differ in the interaction with



- smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrulinated peptide. *Arthritis Rheum*, 2007;56(2):p.425-432.
- 87) Van Snick JL, Van Roost E, Markowitz B, Cabiaso CL, Masson PL: Enhancement by IGM rheumatoid factor of in vitro ingestion by macrophages and in vivo clearance of aggregated IgG or antigen-antibody complexes. *Eur J Immunol*, 1978; 8(4):279-85.
- 88) Vencovsky J, Macháček S, Sedová L, Kafkova J, Gatterová Pesáková V, Ruzicková, S: Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2003; 62(5): 427-30.
- 89) Vossenaar ER, Van Venrooij, WJ: Anti-CCP Antibodies, A Highly Specific marker for (early) rheumatoid arthritis. *Clinical and Applied Immunology Reviews*, 2004; 4: 239-262.
- 90) Wallberg-Jonsson S, Cvetkovic JT, Sundqvist KG, Lefvert AK, Rantapää-Dahlqvist S: Activation of the immune system and inflammatory activity in relation to markers of atherothrombotic disease and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2002;29(5):p.875-882.
- 91) Weyand CM, Klimiuk PA, Goronzy JJ. Heterogeneity of rheumatoid arthritis: from phenotypes to genotypes. *Springer Semin Immunopathol*, 1998; 20(1-2): 5-22.
- 92) Yamashita A, Yonemitsu Y, Okano S, Nakagawa K, Nakashima Y, Irida T, Iwamoto Y, Nagai Y, Hasegawa M, Sueishi K: Fibroblast growth factor-2 determines severity of joint disease in adjuvant-induced arthritis in rats. *J Immunol*, 2002; 168(1): 450-7.
- 93) Youinou P, Le Goff P, Dumay A, Lelong A, Fauquert P, Jouquan J: The antiperinuclear factor I, Clinical and serologic associations. *Clin Exp Rheumatol* 1990b; 8(3):259-64.

## Abstract

**Objectives:** 1 – To study endothelial activation in patients with rheumatoid arthritis, by establishing correlations among specific markers (intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endotheline-1 (ET-1), von Willebrand factor (vWF) and vascular endothelial growth factor (VEGF)) with clinical and laboratorial activities of the disease; 2 – To evaluate possible correlations among the levels of those markers and rheumatoid factor (anti-RF), anti-cyclic citrullinated peptide autoantibody (anti-CCP) and the severity of the disease.

**Casuistic and Methods:** In 38 patients and 24 non-rheumatoid individuals the following elements were dosed: RF, anti-CCP, vWF, ICAM-1, ET-1 and serum VEGF (nephelometry, immunoturbidimetry and EIA). Disease activity was determined by using the DAS28 score. HAQ (Health Assessment Questionnaire) defined the functional ability and the revised criteria of the American College of Rheumatology (ACR) defined the functional class. Hand and fist radiographs quantified the modified Sharp index. On statistical analysis tests employed were: qui-square test, T test, Kolmogorov-Smirnov test, Mann-Whitney test and Spearman's correlation coefficient.

**Results:** Patient age range was  $52 \pm 12,5$  years and in normal individuals age variation was  $49 \pm 9,4$ . Disease time was  $68 \pm 66,6$  months. Significant correlations were found between vWF and disease evolution time and also between autoantibodies and the Sharp index. Correlation of vWF and ICAM-1 were significant with DAS-28 and vWF was correlated with HAQ and with the Sharp index. ET-1 did not show significant correlations with any variable. VEGF was not found in significant correlation with any variable.

**Conclusions:** Autoantibodies and endothelial markers, with the exception of vWF did not show correlations with disease time. RF and anti-CCP were correlated with the Sharp index. A significant correlation was found between vWF and disease activity and severity, through a correlation with DAS28 and Sharp. ICAM-1 had a significant correlation with RF but not with anti-CCP. In the present study ET-1 did not prove itself as an efficient marker for rheumatoid arthritis.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, rheumatoid factor, ICAM-1, anti-CCP, vonWillebrand factor



**ANEXO I****Termo de Consentimento Livre e Esclarecido****I. Registro dos esclarecimentos do pesquisador aos colaboradores da pesquisa.**

Eu, Roberto Cordeiro de Andrade Teixeira, médico, aluno do curso de Pós-Graduação Interinstitucional da Universidade de Ciências da Saúde (UNCISAL) com a Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, venho convidá-la (lo) a participar de uma pesquisa que deverá resultar em minha tese de mestrado.

Esta pesquisa tem por objetivo conhecer melhor, as causas da artrite reumatóide e que podem auxiliar no tratamento desta doença.

Para tanto, nesta consulta, será preenchido um questionário para saber o tempo de diagnóstico da doença e os remédios que estão sendo tomados. Além disso, será realizado o exame físico das juntas comprometidas para conhecimento do grau de atividade da doença, no momento da consulta.

Por fim, será realizada a coleta de sangue por punção de uma veia periférica, em um dos braços, como é realizada, a coleta de sangue de rotina, com o objetivo de fazer uma análise de alguns elementos do sangue presentes em pessoas com artrite reumatóide e que podem influenciar na piora da artrite. Todos os resultados desta pesquisa serão anotados em um prontuário específico, confidencial, que ficará sob a minha responsabilidade, podendo os resultados da pesquisa ser apresentados em eventos e publicados em revistas científicas.

A participação dos colaboradores da pesquisa será totalmente voluntária, podendo os mesmos abandonar, em qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade de seu atendimento ambulatorial de rotina.

Comprometo-me, se necessário, a ressarcir o colaborador de eventuais despesas ou danos decorrentes da participação da pesquisa.

Caso aceite participar da pesquisa, solicito a sua assinatura no item II deste documento.

Desde já, agradeço a sua atenção e coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos sobre a pesquisa. Os meus telefones para contato são: residencial: (82)231-3472; consultório: (82)338-3900 e celular: (82)9341-7638.

Maceió, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_.

---

Pesquisador

## II. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Compreendo o objetivo desta pesquisa e concordo em participar de forma voluntária da mesma, entendendo que as informações serão confidenciais, que não haverá identificação nominal e que não sofrerei qualquer tipo de sanção ou prejuízo, caso desista de participar deste estudo.

Declaro ainda que, ao ser convidado a participar desta pesquisa, todos os esclarecimentos foram prestados pelo pesquisador.

Maceió, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

---

Colaborador

## ANEXO II

### **Critérios para classificação da Artrite Reumatóide do *American Rheumatology* College (ACR) (1987)**

1. **Rigidez matinal** - Na região articular ou periarticular, com duração de, pelo menos, 1 hora antes da melhora máxima.
2. **Artrite de três ou mais regiões articulares** - Três regiões articulares, simultaneamente, com aumento de volume de partes moles observado pelo médico.
3. **Artrite das articulações das mãos** - Pelo menos uma área articular aumentada de volume em punhos, metacarpofalangeanas ou interfalangeanas proximais.
4. **Artrite simétrica** - Envolvimento simultâneo da mesma área articular em ambos os lados do corpo.
5. **Nódulos reumatóides** - Nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas ou superfícies extensoras observadas por médico.
6. **Fator reumatóide sérico** - Demonstração de quantidades anormais de fator reumatóide sérico.
7. Alterações radiográficas típicas de AR em incidência pósterio-anterior de mão e punho devendo incluir erosão ou descalcificação óssea mais intensa na área periarticular.

O paciente precisa preencher, pelo menos, quatro dos setes critérios. Os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por, pelo menos, seis semanas (Arnett, 1988).

## ANEXO III

### Classificação Funcional (ACR 1991)

#### Classe Funcional:

- **Classe I** – completamente hábil para as atividades de rotina diária.
- **Classe II** – hábil para atividades usuais consigo mesmo (vestir-se, pentear-se etc.), mas limitada para outras atividades no trabalho e fora dele.
- **Classe III** – hábil para realizar atividades usuais pessoais, mas bastante limitada para atividades no trabalho e fora dele.
- **Classe IV** – habilidade limitada para atividades pessoais, no trabalho e outras.

**(Marc C. et al, 1991).**

**ANEXO IV**  
**Protocolo Clínico**

**DATA:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Número do protocolo: \_\_\_\_\_

**Dados do paciente:**

Nome: \_\_\_\_\_ Prontuário \_\_\_\_\_

CPF \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade em anos completos: \_\_\_\_\_

Sexo: M  F

**Dados da doença:**

Tempo de diagnóstico: \_\_\_\_\_

Fator Reumatóide: positivo  negativo

Classe funcional \_\_\_\_\_

Doenças associadas:

1- \_\_\_\_\_

2- \_\_\_\_\_

3- \_\_\_\_\_

Drogas específicas anteriormente usadas:

1- \_\_\_\_\_

2- \_\_\_\_\_

3- \_\_\_\_\_

Drogas específicas em uso:

1- \_\_\_\_\_

2- \_\_\_\_\_

3- \_\_\_\_\_

4- \_\_\_\_\_



Outras drogas em uso não específicas para doença em estudo:

1- \_\_\_\_\_

2- \_\_\_\_\_

3- \_\_\_\_\_

**Queixas clínicas:**

**Dor articular:** Presente  Ausente

**Escala de Dor:** Avaliação do paciente em relação da dor na ultima semana

Sem dor 0\_\_1\_\_2\_\_3\_\_4\_\_5\_\_6\_\_7\_\_8\_\_9\_\_10 dor extrema

**Rigidez matinal:** Presente  Ausente

**Tempo da rigidez matinal:**

Até 30 minutos  até 1 hora  mais de 1 hora

**Exame físico articular:**

**Aumento da temperatura articular:** Presente  Ausente

Número de articulações comprometidas: \_\_\_\_\_

**Edema articular:** Presente  Ausente

Número de articulações comprometidas: \_\_\_\_\_

**Comprometimento de tecidos moles periarticular:**

Atrofia muscular: Presente  Ausente

Número de regiões comprometidas: \_\_\_\_\_

**Deformidades:** Presente  Ausente

Número de articulações comprometidas: \_\_\_\_\_

**Presença de nódulos subcutâneos:** Presente  Ausente

**Limitação dos movimentos:** Presente  Ausente

**Presença de comprometimento de outros órgãos:** Presente  Ausente

Tipo de comprometimento: \_\_\_\_\_

## ANEXO V

## Health Assessment Questionnaire (HAQ)

Você é capaz de:	Nível de dificuldade			Incapaz de fazer
	Sem qualquer	Com alguma	Com muita	
1. Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas?	0*	1*	2*	3
2. Lavar sua cabeça e seus cabelos?				
3. Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços?				
4. Deitar-se e Levantar-se da cama?				
5. Cortar um pedaço de carne?				
6. Levar à boca um copo ou uma xícara cheio de café, leite ou água?				
7. Abrir um saco de leite?				
8. Caminhar em lugares planos?				
9. Subir 5 degraus?				
10. Lavar e secar seu corpo após o banho?				
11. Tomar banho de chuveiro?				
12. Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?				
13. Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 Kg, que está posicionado pouco acima da cabeça?				
14. Curvar-se para pegar suas roupas no chão?				
15. Segurar-se em pé no ônibus?				
16. Abrir potes ou vidros de conservas, que tenham sido previamente abertos?				
18. Fazer compras nas redondezas onde mora?				
19. Entrar e sair de um ônibus?				
20. Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e rodo para água?				

\* Valor do escore para a dificuldade.

**ANEXO VI**

**DAS 28**

NOME DO PACIENTE..... Nascimento..... /..... /.....

DATA...../...../.....

	Esquerdo		Direito	
	edema	inflamação	edema	inflamação
Ombro				
Cotovelo				
Punho				
MCP 1				
2				
3				
4				
5				
IFP 1				
2				
3				
4				
5				
joelho				
Subtotal				
Total	edema		inflamação	

0  100

Doença inativa

atividade plena

Edema (0-28)  
 Inflamação (0-28)  
 VHS  
 VAS disease activity (0-100mm)


**DAS28 = 0.56\*√(t28) + 0.28\*√(sw28) + 0.70\*Ln(ESR) + 0.014\*VAS**

--

**ANEXO VII****Enter clinical data to calculate the Disease Activity Score****DAS28 Calculator v1.1-beta for the DAS28 with 4 variables**

by Alfons &amp; Michiel

<b>Clinical variable</b>	<b>Value</b>
tender joint count (0-28)	0
swollen joint count (0-28)	0
ESR (mm/hr)	49
VAS general health patient (mm)	20

DAS28	3,00
-------	------

**ANEXO VIII****Método de Sharp****Erosões**

0 = sem erosão.

1 a 4 = contadas quando discretas e graduadas em crescente quando <50% de área envolvida.

5 = erosões confluentes com >50% de área envolvida.

**Diminuição do espaço articular.**

1 = focal ou assimétrica

2 = < 50% do espaço

3 = > 50% do espaço

4 = anquilose óssea

(adaptado /Sharp et al., 1985)

**Score total do Índice de SHARP**

Grande gravidade	score = > 21
Média gravidade	score = 4-21
Pouca gravidade	score = < 4

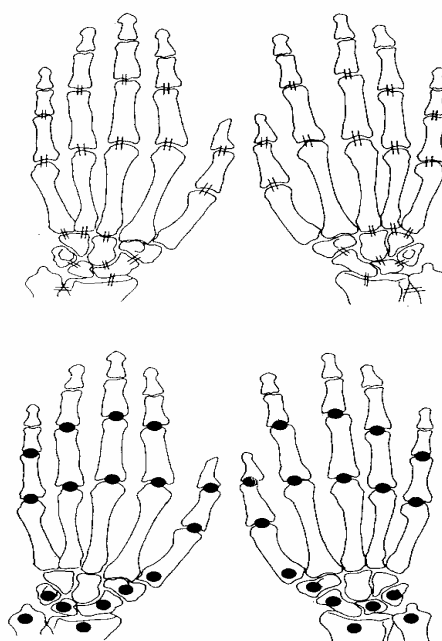
(adaptado Sharp et al., 1985)

**Escore de anormalidades radiológicas pelo método de Sharp.**

17 áreas para erosão (imagem superior)

18 áreas para diminuição de o espaço articular. (figura inferior)

(adaptado /Sharp et al., 1985)



Avaliação radiológica: mãos e punhos (método de Sharp).

5D 4D 3D 2D 1D 1E 2E 3E 4E 5E

IFP (erosão) =										
IFP (pinçamento) =										

MCF(erosão) =										
MCF(pinçamento) =										

(erosão) =

D E

Base do primeiro MTC		
Trapézio		
Escafóide		
Semilunar		
Piramidal		
Rádio		
Ulna		

Pinçamento = D5 4D 3D 3E 4E 5E

CMC 3,4,5						
-----------	--	--	--	--	--	--

Pinçamento =

D E

Trapézio-escafóide		
Semilunar-piramidal		
Escafóide-capto-semilunar		
Rádio-cárpica		
Rádio-ulnar		

## ANEXO IX

Tabela com Dados Demográficos, Clínicos e Radiológicos do Grupo Reumatóide

PAC	SEXO	IDADE	RAÇA	Tb	Td	CF	HAQ	DAS28	ATIV	SHARP	IP	IE
1	F	62	BC	2**	8	II	0,875	4,22	1	45	41	4
2	M	42	PD	2	60	II	1,25	3,78	1	49	45	4
3	F	53	PD	2	60	III	1,625	4,87	1	53	38	15
4	M	63	BC	1*	48	II	0,375	4,82	1	11	10	1
5	F	59	BC	2	60	III	1,375	4,37	1	100	72	28
6	M	45	NG	2	72	I	1	3,73	1	19	12	7
7	F	63	PD	2	108	IV	2,5	4,61	1	53	38	15
8	F	47	BC	2	12	II	0,25	4,03	1	22	20	2
9	F	51	PD	2	72	IV	1,625	3,92	1	50	38	12
10	F	27	PD	2	48	I	0,375	2,17	2	26	18	8
11	F	55	PD	2	60	II	0,625	2,36	2	0	0	0
12	F	48	PD	2	72	III	1,75	5,24	1	8	8	0
13	F	50	PD	2	12	III	1	3,62	1	30	30	0
14	F	64	PD	2	60	II	1	2,31	2	57	38	17
15	F	63	PD	2	78	III	1,625	4,65	1	28	24	4
16	F	42	PD	2	3	III	1,875	5,72	1	34	34	0
17	F	51	PD	2	204	II	1	2,86	2	24	22	2
18	F	45	BC	2	26	II	0,875	2,75	2	20	12	8
19	F	81	BC	2	192	III	2	4,07	1	54	34	20
20	F	66	PD	2	120	III	2,125	3,63	1	14	10	4
21	F	61	BC	2	144	III	2	5,08	1	68	46	22
22	F	56	BC	2	192	III	0,875	2,95	2	32	20	12
23	F	67	BC	2	48	II	0,75	4,1	1	28	26	2
24	F	49	BC	2	60	III	2	3,78	1	8	8	0
25	F	47	BC	2	60	I	0	2,3	2	24	14	10
26	M	19	BC	2	6	II	1,25	2,94	2	18	18	0
27	F	51	PD	2	12	II	1	3,43	1	20	16	4
28	F	54	BC	2	12	II	2,25	3,91	1	33	33	0
29	F	69	PD	2	12	I	0,125	2,58	2	34	30	4
30	F	42	PD	2	108	IV	1,875	5,1	1	66	51	15
31	F	44	BC	2	12	II	1,125	2,92	2	12	12	0
32	F	47	BC	2	29	III	2,625	4,16	1	18	18	0
33	F	57	PD	2	30	II	1,375	2,54	2	34	22	12
34	M	26	BC	2	12	I	0,75	2,68	2	0	0	0
35	F	48	PD	2	12	III	2,125	2,09	2	14	14	0
36	F	69	NG	2	276	IV	2,25	5,39	1	32	22	6
37	M	53	PD	2	3	III	1,75	5,76	1	17	14	3
38	F	39	BC	2	180	II	1,375	2,5	2	23	16	7

PAC: paciente; Tb: Tabagismo; Td: Tempo de doença; Cf: Classe funcional; Ativ.: Atividade; IP: Índice de pinçamento; IE: Índice de erosão \* (1): Sim; \*\* (2): Não.

## ANEXO X

Tabela dos Dados Laboratoriais do Grupo Reumatóide

PAC	SEXO	FR	Anti-CCP	VHS	vWF	ET-1	ICAM-1	VEGF	PCR
1	F	171	15	46	202	0,18	303	119	6
2	M	489	135	15	397	0,43	240	293	6
3	F	19	11	47	97	0,02	275	553	6
4	M	276	251	54	95	1,05	436	311	6
5	F	3180	251	39	299	0,01	539	555	6
6	M	201	251	30	355	0,35	292	628	6
7	F	78	183	44	246	0,01	193	388	6
8	F	161	193	26	122	0,01	313	144	6
9	F	76	121	45	176	0,01	273	128	96
10	F	19	83	3	134	0,01	240	258	6
11	F	139	0,09	13	67	0,41	286	126	6
12	F	19	6	40	162	0,5	443	323	6
13	F	43	173	29	147	0,01	171	668	6
14	F	1600	49	10	1510	0,85	735	293	24
15	F	22	99	48	286	0,49	248	235	12,9
16	F	711	251	88	639	0,26	513	1079	96
17	F	19	6	22	165	0,3	501	682	6
18	F	36	251	23	129	0,2	287	495	6
19	F	491	251	37	320	0,34	341	461	12
20	F	19	4	44	136	0,39	216	663	12
21	F	1010	134	50	694	0,01	466	403	24
22	F	279	168	25	380	0,1	254	375	6
23	F	62	25	33	422	0	382	293	12
24	F	19	25	30	193	0,71	265	354	6
25	F	171	9	18	155	0,63	193	300	6
26	M	25	16	14	131	2,29	361	670	12
27	F	19	9	28	84	0,01	208	352	6
28	F	19	3	33	212	0,06	183	669	6
29	F	120	11	22	140	0,01	387	334	6
30	F	886	128	52	344	0,01	365	490	10
31	F	19	18	24	77	0,26	137	613	6
32	F	19	7	94	104	0,01	227	567	24
33	F	191	251	17	174	0,19	617	368	6
34	M	19	6	60	106	0,01	290	1180	6
35	F	27	23	6	182	0,01	203	239	6
36	F	225	198	100	574	0,02	336	293	24
37	M	1050	57	95	606	0,57	726	208	48
38	F	100	44	16	199	0,01	109	757	6

PAC: paciente;



## ANEXO XI

Tabela dos Dados Demográficos e Laboratoriais do Grupo Controle

PAC	SEXO	IDADE	TABAG	FR	Anti-CCP	VHS	vWF	ET-1	ICAM-1	VEGF	PCR
1	F	59	2	19	2	22	157	0,23	207	332	5
2	M	45	2	19	0,99	18	134	1,1	211	374	5
3	F	55	2	19	3	25	176	0,76	243	798	5
4	F	48	2	19	4	2	296	0,67	209	393	5
5	M	50	2	19	0,99	5	179	0,33	199	483	5
6	F	44	2	19	0,99	10	176	<0,01	175	312	5
7	F	58	2	19	6	12	68	0,13	353	486	7
8	F	60	2	19	3	4	80	<0,01	114	239	5
9	F	49	2	19	2	5	140	0,48	270	1910	5
10	F	66	2	19	16	12	136	1,01	254	218	7
11	F	44	2	19	5	6	108	0,46	224	220	5
12	F	48	2	19	5	6	286	0,77	248	107	5
13	F	46	2	34	26	4	143	0,56	207	165	5
14	F	68	2	19	6	24	145	0,30	121	271	5
15	F	57	2	19	5	3	164	0,08	358	363	8
16	F	48	2	19	2	6	237	0,31	282	593	5
17	F	39	2	19	4	28	262	0,50	211	416	5
18	F	30	2	19	9	3	123	0,22	261	553	5
19	F	46	2	19	7	5	179	0,37	247	191	5
20	M	35	2	19	2	1	104	0,33	121	367	5
21	F	45	2	19	2	1	151	<0,01	233	89	5
22	F	43	2	19	5	10	62	0,15	120	79	5
23	F	48	2	19	2	6	80	0,03	176	1142	5
24	F	36	2	19	0,99	12	148	0,1	191	5	5

Pac: paciente

## **ANEXO XII**

### **Validação dos Testes Laboratoriais dos Marcadores de Ativação Endotelial**

#### **E anticorpo anti-CCP**